

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Под редакцией
Е. Н. Паровичниковой,
Т. В. Гапоновой,
М. Ю. Дрокова



**ТРАНСПЛАНТАЦИЯ
АЛЛОГЕННЫХ
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК.
ПРАКТИЧЕСКОЕ
РУКОВОДСТВО**



ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК. ПРАКТИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО

Под редакцией
Е. Н. Паровичниковой,
Т. В. Гапоновой,
М. Ю. Дрокова



ББК 54.11:53.53
УДК 616.15
T65

Научные редакторы:

доктор медицинских наук Е. Н. Паровичникова, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, главный внештатный специалист гематолог Минздрава России;
доктор медицинских наук Т. В. Гапонова, первый заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, главный внештатный специалист трансфузиолог Минздрава России;
кандидат медицинских наук М. Ю. Дроков, руководитель сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Практическое руководство. Под ред. Е. Н. Паровичниковой, Т. В. Гапоновой, М. Ю. Дрокова. — М.: Практика, 2024. — 640 с.

T65

Настоящая книга представляет собой вторую часть и логическое продолжение книги по трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, изданной в 2020 г. Все протоколы и фундаментальные обзоры, приведенные в этой части, представляют собой результаты многолетнего опыта выполнения трансплантаций аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у взрослых пациентов с различными заболеваниями системы крови в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Книга предназначена для гематологов, онкологов, врачей других специальностей, работающих с трансплантацией аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, а также может быть полезной для ординаторов, аспирантов и студентов медицинских вузов.

© ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, 2024 (текст)
© Издательский дом «Практика», 2024 (оформление)

ISBN 978-5-89816-200-9

Содержание

Авторы	9
Сокращения и единицы измерения	16
Введение	22
Часть I. Биологические аспекты трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток крови	23
<i>Н. И. Дризе, Н. А. Петинати</i>	
Глава 1. Кроветворение после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	25
<i>Ф. А. Омарова, М. Ю. Дроков, Е. Г. Хамаганова</i>	
Глава 2. Главный комплекс гистосовместимости: история открытия, эволюция, строение, значение при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	47
<i>Н. Н. Попова, М. Ю. Дроков</i>	
Глава 3. Реконституция иммунной системы после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток и иммунологическое обоснование профилактики реакции «трансплантат против хозяина»	71
<i>О. С. Караваева, М. Ю. Дроков, Е. Г. Хамаганова</i>	
Глава 4. Роль регуляторных Т-лимфоцитов при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	91
Часть II. Формирование окончательного клинического диагноза, сроки, порядок оценки ответа на терапию и констатации рецидива при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	115
<i>А. И. Кашлакова, И. А. Лукьянова, А. Н. Соколов, В. Н. Двирник, Т. Н. Обухова, И. В. Гальцева, А. Б. Судариков, В. В. Троицкая, Е. Н. Паровичникова</i>	
Глава 5. Острый миелоидный и острый промиелоцитарный лейкозы	117
<i>О. А. Алешина, А. Н. Васильева, В. Н. Двирник, Т. Н. Обухова, Е. Н. Паровичникова</i>	
Глава 6. Острые лимфобластные лейкозы	129
<i>Е. А. Михайлова, З. Т. Фидарова, А. В. Лучкин, А. В. Абрамова</i>	
Глава 7. Приобретенная апластическая анемия	141
<i>А. В. Кохно</i>	
Глава 8. Миелодиспластические синдромы	147

<i>Д. А. Королева, Л. Г. Горенкова, Н. Г. Габеева, А. К. Смольянинова, М. Ю. Дроков, Л. А. Кузьмина, Е. Е. Звонков</i>	
Глава 9. Неходжкинские лимфомы	157
<i>М. В. Соловьев, Л. П. Менделеева</i>	
Глава 10. Множественная миелома	167
<i>И. Н. Суборцева, А. Л. Меликян, Е. А. Гилязитдинова</i>	
Глава 11. Миелофиброз (первичный, постполицитемический, посттромбоцитемический)	177
Часть III. Аспекты подбора донора, заготовки клеточного материала и особенности трансфузиологической помощи при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	185
<i>Е. Г. Хамаганова</i>	
Глава 12. Требования к HLA-типированию и оценка HLA-совместимости при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	187
<i>В. А. Васильева, О. С. Караваева, Л. А. Кузьмина, О. С. Покровская, Е. Г. Хамаганова, Т. В. Гапонова</i>	
Глава 13. Алгоритмы подбора доноров	195
<i>М. А. Теляшов, И. М. Накастоев, Д. В. Камельских, Т. В. Гапонова</i>	
Глава 14. Протокол забора гемопоэтических стволовых клеток	213
<i>М. В. Довыденко, Е. Д. Михальцова</i>	
Глава 15. Эксфузия костного мозга	217
<i>И. В. Гальцева, Ю. О. Давыдова, Н. М. Капранов, К. А. Никифорова, Е. Н. Паровичникова</i>	
Глава 16. Методика подсчета CD34-положительных гемопоэтических стволовых клеток в периферической крови и трансплантате	225
<i>И. В. Гальцева, Ю. О. Давыдова, Н. М. Капранов, К. А. Никифорова</i>	
Глава 17. Методика подсчета CD3-положительных клеток в трансплантате	237
<i>В. К. Спицын, И. М. Накастоев, Т. В. Гапонова</i>	
Глава 18. Протокол криоконсервирования гемопоэтических стволовых клеток	243
<i>Д. В. Камельских, В. П. Демидов, К. В. Шайдурова, Т. В. Гапонова</i>	
Глава 19. Трансфузии компонентов донорской крови у больных на различных этапах трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток и аллогенного костного мозга	249

Часть IV. Инфекционные осложнения после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	253
<i>Г. А. Клясова</i>	
Глава 20. Диагностика, лечение и профилактика инфекционных осложнений у пациентов при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	255
<i>А. А. Дмитрива, Т. А. Туполева, Г. А. Клясова, Д. С. Тихомиров, М. Ю. Дроков</i>	
Глава 21. Цитомегаловирусная инфекция при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	279
<i>И. С. Сайдуллаева, Т. А. Туполева, Г. А. Клясова, Д. С. Тихомиров, М. Ю. Дроков</i>	
Глава 22. Инфекция, вызванная вирусом герпеса человека 6-го типа у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	303
Часть V. Аспекты обеспечения и проведения предтрансплантационного кондиционирования и режима профилактики РТПХ при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	329
<i>М. В. Спиринов, Г. М. Галстян, М. Ю. Дроков</i>	
Глава 23. Обеспечение сосудистого доступа при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	331
<i>Е. Ю. Карпенко, М. Ю. Дроков</i>	
Глава 24. Алгоритмы коррекции дозы препаратов при проведении кондиционирования	353
<i>А. А. Кравцова, М. Ю. Дроков</i>	
Глава 25. Фармакологические основы биологических эффектов посттрансплантационного циклофосфида	361
<i>М. Ю. Дроков</i>	
Глава 26. Иммунологически обоснованные протоколы предтрансплантационной подготовки и профилактики РТПХ при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, коррекция и отмена иммуносупрессивной терапии	373
Часть VI. Мониторинг за пациентами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток и анализ полученных данных	403
<i>У. В. Масликова, Н. Н. Попова, М. Ю. Дроков, Е. Г. Хамаганова</i>	
Глава 27. Констатация приживления и виды несостоятельности трансплантата после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	405

<i>Д. С. Дубняк, Н. В. Рисинская, М. Ю. Дроков, А. Б. Судариков</i> Глава 28. Мониторинг молекулярного химеризма у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	423
<i>Э. И. Кольгаева, М. Ю. Дроков, Д. Э. Выборных</i> Глава 29. Приверженность к лечению у больных с заболеваниями системы крови и реципиентов аллогенных органов и тканей	439
<i>В. А. Васильева, М. Ю. Дроков, Л. А. Кузьмина</i> Глава 30. Алгоритмы наблюдения и лабораторного мониторинга за пациентами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	455
<i>С. М. Куликов, А. А. Куликовский, Ю. А. Чабаева, Е. Н. Паровичникова</i> Глава 31. Методические особенности подготовки и анализа данных исследований в области гематологии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток	469
Часть VII. Отдельные клинические аспекты трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	519
<i>А. Е. Щекина, Г. М. Галстян</i> Глава 32. Особенности интенсивной терапии после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	521
<i>О. М. Королева, М. Ю. Дроков</i> Глава 33. Парциальная красноклеточная аплазия после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	549
<i>А. Е. Щекина, В. А. Васильева, Г. М. Галстян</i> Глава 34. Осложнения, связанные с эндотелиальной дисфункцией после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	555
<i>Г. М. Галстян, А. Е. Щекина, В. А. Васильева, И. Э. Костина, Е. Н. Паровичникова</i> Глава 35. Особенности поражения легких при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток	583
<i>В. А. Васильева, О. С. Караваева</i> Глава 36. Вакцинация взрослых пациентов после алло-ТГСК	605
<i>М. В. Довыденко, З. В. Конова, О. М. Королева, В. А. Васильева, Л. А. Кузьмина, М. Ю. Дроков, И. А. Лукьянова, Г. А. Басхаева, О. А. Алешина, А. Н. Соколов</i> Глава 37. Профилактика рецидива заболевания после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с острыми лейкозами	619

Авторы

Абрамова Анастасия Владимировна — кандидат медицинских наук, врач-гематолог дневного стационара онкологии и химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Алешина Ольга Александровна — кандидат медицинских наук, заведующая отделением, врач-гематолог отделения гематологии и химиотерапии острых лейкозов и лимфом, старший научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Басхаева Галина Александровна — кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Васильева Анастасия Николаевна — врач-гематолог отделения гематологии и химиотерапии острых лейкозов и лимфом ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Васильева Вера Алексеевна — кандидат медицинских наук, заведующая отделением, врач-гематолог дневного стационара иммунохимиотерапии после трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Выборных Дмитрий Эдуардович — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией, врач-психиатр лаборатории по изучению психических и неврологических расстройств при заболеваниях системы крови ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Габеева Нэлли Георгиевна — кандидат медицинских наук, врач-гематолог, научный сотрудник отделения гематологии и химиотерапии лимфом с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Галстян Геннадий Мартинович — доктор медицинских наук, заведующий отделом реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Гальцева Ирина Владимировна — доктор медицинских наук, врач-гематолог, руководитель сектора иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Гапонова Татьяна Владимировна — доктор медицинских наук, первый заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, доцент кафедры трансфузиологии и проблем переливания крови ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, главный внештатный специалист трансфузиолог Минздрава России

Гилязитдинова Елена Александровна — врач-гематолог отделения стандартизации методов лечения гематологических заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Горенкова Лилия Гамилевна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения химиотерапии лимфатических опухолей с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток с дневным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Давыдова Юлия Олеговна — кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Двирнык Валентина Николаевна — кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики, заведующая централизованной клинико-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Демидов Виктор Петрович — врач-методист отдела трансфузиологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Дмитрова Анна Александровна — кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Довыденко Мария Вячеславовна — кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Дризе Нина Иосифовна — доктор биологических наук, заведующая лабораторией физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Дроков Михаил Юрьевич — кандидат медицинских наук, руководитель сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Дубняк Дарья Станиславовна — врач-гематолог дневного стационара иммунохимиотерапии после трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Звонков Евгений Евгеньевич — доктор медицинских наук, врач-гематолог, заведующий отделом лимфопролиферативных заболеваний, заведующий отделением гематологии и химиотерапии лимфом с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Камельских Денис Владимирович — заведующий отделением, врач-трансфузиолог отделения организации и обеспечения безопасности трансфузиологической помощи ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Капранов Николай Михайлович — кандидат биологических наук, ведущий специалист лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Караваяева Ольга Станиславовна — врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Карпенко Елена Юрьевна, врач-онколог отделения предтрансплантационной подготовки отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Кашлакова Анастасия Игоревна — врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Клясова Галина Александровна — профессор, доктор медицинских наук, заведующая отделом микробиологии и антимикробной терапии, руководитель группы клинической фармакологии антибактериальных препаратов, врач — клинический фармаколог ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Кольгаева Эльмира Илгаровна — врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Конова Зоя Викторовна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Королева Дарья Александровна — кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения гематологии и химиотерапии лимфом с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Королева Ольга Михайловна — врач-гематолог дневного стационара иммунохимиотерапии после трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Костина Ирина Эдуардовна — кандидат медицинских наук, врач-рентгенолог, заведующая рентгеновским отделением ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Кохно Алина Владимировна — кандидат медицинских наук, заведующая отделом диагностики и лечения гематологических заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Кравцова Анна Александровна — специалист сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Кузьмина Лариса Анатольевна — кандидат медицинских наук, заведующая отделением, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, ведущий научный сотрудник сектора иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Куликов Сергей Михайлович — кандидат технических наук, начальник информационно-аналитического отдела ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Куликовский Антон Александрович — ведущий специалист информационно-аналитического отдела ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Лукьянова Ирина Анатольевна — кандидат медицинских наук, заведующая отделением, врач-гематолог дневного стационара онкологии и химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения, научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Лучкин Антон Владимирович — кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с блоком ТКМ и ТГСК ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Меликян Анаит Леоновна — доктор медицинских наук, врач-гематолог, заведующая отделением стандартизации методов лечения гемато-

логических заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Менделеева Лариса Павловна — доктор медицинских наук, профессор, руководитель управления по научной и образовательной работе, заведующая отделом химиотерапии парапротеинемических гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Михайлова Елена Алексеевна — доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Михальцова Екатерина Дмитриевна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Масликова Ульяна Владиславовна — врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Накастоев Ислам Мухарбекович — кандидат медицинских наук, заведующий отделением, врач-трансфузиолог отделения забора гемопоэтических стволовых клеток, обработки и хранения костного мозга и (или) гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Никифорова Ксения Александровна — биолог лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Обухова Татьяна Никифоровна — кандидат медицинских наук, врач — лабораторный генетик, заведующая лабораторией кариологии, врач клинической лабораторной диагностики ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Омарова Феруза Абдуладжи-кизи — врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Паровичникова Елена Николаевна — доктор медицинских наук, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, главный внештатный специалист гематолог Минздрава России

Петинати Наталия Арнольдовна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Покровская Ольга Станиславовна — кандидат медицинских наук, врач-гематолог, заведующая отделением предтрансплантационной подготовки ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Попова Наталья Николаевна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Рисинская Наталья Владимировна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Сайдуллаева Инара Санджаровна — врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Смолянинова Анна Константиновна — кандидат медицинских наук, врач-гематолог, научный сотрудник отделения гематологии и химиотерапии лимфом с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Соколов Андрей Николаевич — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга, врач-гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Соловьев Максим Валерьевич — кандидат медицинских наук, заведующий отделением, врач-гематолог отделения гематологии и химиотерапии парапротеинемических гемобластозов с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, старший научный сотрудник отдела химиотерапии парапротеинемических гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Спирин Михаил Васильевич — кандидат медицинских наук, врач отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Спицын Вадим Константинович — врач-трансфузиолог отделения забора гемопоэтических стволовых клеток, обработки и хранения костного мозга и (или) гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Суборцева Ирина Николаевна — кандидат медицинских наук, врач-онколог отделения стандартизации методов лечения гематологических заболеваний, старший научный сотрудник отдела диагностики и лечения гематологических заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Судариков Андрей Борисович — доктор биологических наук, заведующий отделом молекулярной генетики и лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Теляшов Максим Александрович — врач-трансфузиолог отделения забора гемопоэтических стволовых клеток, обработки и хранения костного мозга и (или) гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Тихомиров Дмитрий Сергеевич — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией вирусологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Троицкая Вера Витальевна — доктор медицинских наук, врач-гематолог, первый заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, главный внештатный специалист гематолог Минздрава России по Центральному федеральному округу

Туполева Татьяна Алексеевна — доктор медицинских наук, заведующая отделом вирусологии, заведующая отделением инфекционной безопасности трансфузий, врач-вирусолог ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Фидарова Залина Таймуразовна — кандидат медицинских наук, заведующая отделением химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с блоком ТКМ и ТГСК, старший научный сотрудник сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Хамаганова Екатерина Георгиевна — доктор биологических наук, заведующая отделением тканевого типирования, заведующая лабораторией тканевого типирования ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Чабаева Юлия Александровна — кандидат физико-математических наук, заместитель начальника информационно-аналитического отдела ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Шайдурова Ксения Владимировна — ведущий специалист отдела трансфузиологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Щекина Антонина Евгеньевна — кандидат медицинских наук, врач анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Сокращения и единицы измерения

АА	— апластическая анемия
АД	— артериальное давление
АКДС	— адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина
АЛК	— δ -аминолевулиновая кислота
алло-ГСК	— аллогенные гемопоэтические стволовые клетки
алло-ТГСК	— трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток
АЛТ	— аланинаминотрансфераза
АМГ	— антимюллеров гормон
АПК	— антигенпрезентирующие клетки
АСТ	— аспаратаминотрансфераза
АТГ	— антиtimoцитарный иммуноглобулин
ауто-ТГСК	— трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток
АЧЛ	— абсолютное число лейкоцитов
АЧН	— абсолютное число нейтрофилов
АЧТВ	— активированное частичное тромбопластиновое время
БАЛ	— бронхоальвеолярный лаваж
БДУ	— без дополнительных уточнений
БК	— бластные клетки
БЛРС	— бета-лактамазы расширенного спектра действия
БРВ	— безрецидивная выживаемость
БСВ	— бессобытийная выживаемость
БЦЖ	— бацилла Кальметта—Герена
в/в	— внутривенно (-ный)
ВБП	— выживаемость без прогрессирования
ВГЧ-6	— вирус герпеса человека 6-го типа
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека
ВОЗ	— Всемирная организация здравоохранения
ВРВ	— внебольничные респираторные вирусы
ВРР	— вероятность развития рецидива
ВЭБ	— вирус Эпштейна—Барр
г	— грамм
г., гг.	— год, годы
ГГТ	— гамма-глутамилтрансфераза
ГКГ	— главный комплекс гистосовместимости
Г-КСФ	— гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

ГМА	— гипометилирующие агенты
ГСК	— гемопоэтические стволовые клетки
ГУС	— гемолитико-уремический синдром
ГЭК	— гидроксипроцетилкрахмал
ДВККЛ	— диффузная В-крупноклеточная лимфома
дл	— децилитр
ДМСО	— диметилсульфоксид
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ДСА	— донорспецифические антитела
ед	— единица
ЖКК	— желудочно-кишечное кровотечение
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт
ИВЛ	— искусственная вентиляция легких
ИЛ	— интерлейкин
ИМТ	— индекс массы тела
ИП	— истинная полицитемия
ИТК	— ингибиторы тирозинкиназы
ИФА	— иммуноферментный анализ
ИФТ	— иммунофенотипирование
КАИК	— катетер-ассоциированная инфекция кровотока
КАТ	— катетер-ассоциированные тромбозы
кг	— килограмм
КМ	— костный мозг
КОЕ-ГМ	— колониеобразующие единицы гранулоцитарно-макрофагальные
КОП	— криптогенная организующая пневмония
КСД	— катетер средней длины
КТ	— компьютерная томография
КЩС	— кислотно-щелочное состояние
л	— литр
ЛАИФ	— лейкоз-ассоциированный иммунофенотип
ЛГ	— лютеинизирующий гормон
ЛДГ	— лактатдегидрогеназа
ЛК	— лейкоконцентрат
ЛКМ	— лимфома из клеток мантии
ЛКМЗ	— лимфома из клеток маргинальной зоны
ЛЛ	— лимфоцитарная лимфома
ЛПВП	— липопротеиды высокой плотности
ЛПЗ	— лимфопротеративное заболевание
ЛПНП	— липопротеиды низкой плотности
м	— метр
мг	— миллиграмм

МД	— мультилинейная дисплазия
МДС	— миелодиспластический синдром
МЕ	— международная единица
мин	— минута
мкг	— микрограмм
М-КСФ	— макрофагальный колониестимулирующий фактор
мл	— миллилитр
млн	— миллион
мм	— миллиметр
ММ	— множественная миелома
мм рт. ст.	— миллиметр ртутного столба
ммоль	— миллимоль
МНК	— мононуклеарные клетки
МНО	— международное нормализованное отношение
МОБ	— минимальная остаточная болезнь
МПН	— миелопролиферативные новообразования
МПП	— мультипотентные предшественники
МПЦ	— многоцветная проточная цитофлуорометрия
мРНК	— матричная РНК (информационная РНК)
МРТ	— магнитно-резонансная томография
МСК	— мезенхимные стромальные клетки
НАДФ	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НХЛ	— неходжкинские лимфомы
ОВ	— общая выживаемость
ОДН	— острая дыхательная недостаточность
ОЖСС	— общая железосвязывающая способность сыворотки
ОЛ	— острый лейкоз
ОЛЛ	— острый лимфобластный лейкоз
ОМЛ	— острый миелоидный лейкоз
ОНМК	— острое нарушение мозгового кровообращения
ОПЛ	— острый промиелоцитарный лейкоз
ОПП	— острое повреждение почек
ОР	— отношение рисков
ОРДС	— острый респираторный дистресс-синдром
ОРИТ	— отделение реанимации и интенсивной терапии
ОРТПХ	— острая реакция «трансплантат против хозяина»
ОФВ1	— объем форсированного выдоха за 1-ю секунду
ОХС	— общий холестерин
ОЦК	— объем циркулирующей крови
ПИЦВК	— периферически имплантируемый ЦВК
ПК	— периферическая кровь
ПККА	— парциальная красноклеточная аплазия

ПКМ	— пункция костного мозга
ПМФ	— первичный миелофиброз
ПНГ	— пароксизмальная ночная гемоглобинурия
ППТ	— площадь поверхности тела
ПР	— полная ремиссия
ПТИ	— протромбиновый индекс
ПТЛПЗ	— посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание
ПТЦФ	— посттрансплантационный циклофосфамид
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
ПЦР-RV, qПЦР	— ПЦР в реальном времени
ПЭТ	— позитронно-эмиссионная томография
РИФ	— реакция иммунофлюоресценции
РНК	— рибонуклеиновая кислота
РСВ	— респираторный синцитиальный вирус
РТПЛ	— реакция «трансплантат против лейкоза»
РТПО	— реакция «трансплантат против опухоли»
РТПХ	— реакция «трансплантат против хозяина»
СИИП	— синдром идиопатической интерстициальной пневмонии
СКК	— стволовые клетки крови
СКФ	— скорость клубочковой фильтрации
СЛЦ	— свободные легкие цепи
СМЖ	— спинномозговая жидкость
СОБ	— синдром облитерирующего бронхиолита
СОЭ	— скорость оседания эритроцитов
СПИД	— синдром приобретенного иммунодефицита
СППК	— синдром повышенной проницаемости капилляров
СПТ	— синдром «приживания трансплантата»
ССО	— синдром синусоидальной обструкции
сут	— сутки
СФОЛ	— острые лейкозы смешанного иммунофенотипа
СЦИ	— стандартное цитогенетическое исследование
т. п. н.	— тысячи пар нуклеотидов
ТА-ТМА	— трансплантат-ассоциированная ТМА
ТВ	— тромбиновое время
ТГСК	— трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
ТКМ	— трансплантация костного мозга
ТЛД	— трансфузия лимфоцитов донора
ТМА	— тромботическая микроангиопатия

ТТГ	— тиреотропный гормон
ТТП	— тромботическая тромбоцитопеническая пурпура
УЗИ	— ультразвуковое исследование
ФВД	— функции внешнего дыхания
ФЛ	— фолликулярная лимфома
ФНО	— фактор некроза опухоли
ФРДКМ	— Федеральный регистр доноров костного мозга
ФСГ	— фолликулостимулирующий гормон
ХЛЛ	— хронический лимфолейкоз
ХМЛ	— хронический миелолейкоз
хРТПХ	— хроническая реакция «трансплантат против хозяина»
ХС	— холестерин
ХТ	— химиотерапия
ЦВД	— центральное венозное давление
ЦВК	— центральный венозный катетер
ЦМВ	— цитомегаловирус
ЦНС	— центральная нервная система
ч	— час
ЧДД	— частота дыхательных движений
ЧР	— частичная ремиссия
ЧСС	— частота сердечных сокращений
ЩФ	— щелочная фосфатаза
ЭКГ	— электрокардиография
ЭТ	— эссенциальная тромбоцитемия
ЭхоКГ	— эхокардиография
ЭЭГ	— электроэнцефалография
7-AAD	— 7-аминоактиномицин D
ADAMTS13	— протеаза, расщепляющая фактор Виллебранда (A Disintegrin and Metalloprotease with ThromboSpondin type 1 repeats, member 13)
ALDH	— альдегиддегидрогеназа
AUC	— площадь под фармакологической кривой
BMDW	— Всемирная ассоциация доноров костного мозга (Bone Marrow Donors Worldwide)
CAR	— химерный антигенный рецептор
СРБ	— С-реактивный белок
CD	— кластер дифференцировки
dПЦР	— цифровая капельная ПЦР
EBMT	— Европейская группа по трансплантации крови и костного мозга (European Group for Blood and Marrow Transplantation)

EGIL	— Европейская группа по иммунологическому описанию лейкозов (European Group of Immunological Classification of Leukemias)
ELN	— Европейская сеть по изучению лейкозов (European Leukemia Net)
FI—XIII	— факторы свертывания I—XIII
FISH	— флюоресцентная гибридизация in situ
FLICA	— флуоресцентно меченный ингибитор каспаз
FOXP3	— фактор транскрипции
Hb	— гемоглобин
HBcAg	— ядерный антиген вируса гепатита В
HBsAg	— е-антиген вируса гепатита В
HBsAg	— поверхностный антиген вируса гепатита В
HCVcAg	— ядерный антиген вируса гепатита С
HEPA-фильтр	— фильтр высокой степени очистки воздуха
HHV-6	— вирус герпеса человека 6-го типа
HLA	— антигены главного комплекса гистосовместимости человека (human leukocyte antigens)
Ig	— иммуноглобулины
IMWG	— Международная рабочая группа по множественной миеломе (International Myeloma Working Group)
MHC	— главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex)
NGS	— секвенирование следующего поколения (next-generation sequencing)
NMDP	— Национальная программа донорства костного мозга
pH	— водородный показатель ($\text{pH} = -\lg[\text{H}^+]$)
Ph	— филадельфийская хромосома
SNP	— однонуклеотидные полиморфизмы
SpO ₂	— насыщение кислородом гемоглобина
SSC	— боковое светорассеяние (side scatter)
STR	— короткие tandemные повторы
TCR, ТКР	— Т-клеточный рецептор
Th, Тх	— Т-хелперы
Treg, Трег	— регуляторные Т-лимфоциты
T3	— трийодтиронин
T4	— тироксин
VNTR	— tandemные повторы с переменным числом

Введение

В настоящее время трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток является этапом программного лечения пациентов с различными заболеваниями системы крови. Несмотря на то что сегодня активно развиваются и становятся доступными инновационные таргетные лекарственные препараты, а также активно развиваются и внедряются в практику высокотехнологические методы лечения, такие как CAR-T клеточная терапия, ни один из доступных сегодня современных методов лечения злокачественных заболеваний крови не может гарантировать удержание длительной ремиссии, а выздоровление без выполнения трансплантации практически невозможно. Потребность выполнения трансплантаций аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в нашей стране огромна и составляет около 3000 в год, что пока существенно превышает возможности крупных трансплантационных центров. Развитие и внедрение технологии гаплоидентичной трансплантации за последние несколько лет существенно увеличило трансплантационную активность и сделало доступным более раннее выполнение трансплантации пациентам в гематологических отделениях вне специализированных трансплантационных центров. Эта книга по праву является продолжением опубликованной в 2020 г. первой книги, которая была посвящена основным протоколам выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Наряду с обновленными протоколами во второй части книги освещаются фундаментальные вопросы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, что позволит врачам и другим специалистам лучше понимать различные трансплантационные аспекты, а также затрагиваются вопросы заготовки трансплантата, ведения пациентов на различных этапах после трансплантации и посттрансплантационных осложнений.

Биологические аспекты трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток крови

Глава 1.

Кроветворение после трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток

Краткая история метода трансплантации гемопозитических стволовых клеток

Трансплантация костного мозга и/или трансплантация гемопозитических стволовых клеток (ТГСК) включает введение здоровых гемопозитических стволовых клеток (ГСК) пациентам с дисфункциональным или истощенным костным мозгом. Это помогает восстановить функцию костного мозга и позволяет, в зависимости от заболевания, либо уничтожить опухолевые клетки, либо заменить дисфункциональные клетки нормальными при синдромах иммунодефицита, гемоглобинопатиях и других заболеваниях. За последние 50 лет в мире было проведено более 1,5 миллиона трансплантаций аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) в 1500 трансплантационных центрах [1, 2]. В течение этих лет процедура алло-ТГСК перешла из экспериментального начинания в стандарт лечения многих злокачественных и незлокачественных гематологических заболеваний [3]. Исторически идея трансплантации костного мозга возникла в связи с исследованием причин смерти людей через 3—4 недели после взрыва атомной бомбы во время Второй мировой войны. Массовая гибель людей от лучевой болезни, вызванной гибелью клеток крови, кожи и кишечника

стимулировала активное изучение радиологии и биологии кроветворения. В решающем эксперименте Jacobson et al. зафиксировали сохранение кроветворения у мышей после летального облучения, если их селезенка была экранирована [4]. Вскоре Lorenz et al. показали, что мыши могут оправиться после летального лучевого поражения в случае инфузии сингенного костного мозга [5]. В результате последующей работы было установлено, что костный мозг — источник «клеточных элементов», необходимых для восстановления кроветворения [6]. Наблюдение дозозависимой токсичности воздействия радиации на костный мозг позволило выдвинуть концепцию возможного использования смертельной дозы радиации для уничтожения лейкозных клеток с последующей инфузией клеток донорского костного мозга для заселения ими костного мозга хозяина. В работах группы Till было доказано существование ГСК и изучены их основные свойства [7, 8]. Со временем было четко продемонстрировано, что именно за счет ГСК происходит восстановление кроветворения в летально облученном организме [9]. Совокупность большого числа научных работ позволила начать использование алло-ТГСК в качестве стратегии лечения радиационно-индуцированных травм костного мозга. Возможность убить кроветворные клетки с помощью облучения стимулировала исследования по лечению гемобластозов. В 1956 г. Barnes et al. сообщили об успешном лечении лейкоза у мышей, подвергнутых летальной дозе облучения, с последующей трансплантацией донорского костного мозга [10]. В 1957 г. Thomas et al. сообщили о лечении острого лейкоза у людей с использованием летального облучения с последующим введением трупного костного мозга от плода или взрослого [11]. С 1959 по 1962 г. были опубликованы результаты 203 алло-ТГСК (рис. 1). В итоге все пациенты умерли от разных причин, известно, что 125 — из-за отторжения трансплантата, а 47 — от реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), которая в то время называлась «вторичная болезнь».

В то же время Mathé et al. описали клинический случай приживления костного мозга от родственного донора [13]. Пациент в конечном итоге скончался от РТПХ, но при этом сохранялась ремиссия лейкоза. Благодаря этому наблюдению Mathé et al. подтвердили предыдущий опыт Barnes et al. на мышах, показывающий, что РТПХ может привести к уничтожению лейкозных клеток [11, 13]. Выявленный феномен Мате назвал эффектом «трансплантат против лейкемии» [1]. Стало ясно, что необходимы дополнительные доклинические исследования. Важным этапом в развитии метода алло-ТГСК стала работа на собаках, показавшая, что результаты трансплантации гораздо лучше при совпадении главного комплекса гистосовместимости у донора и реципиента [14].

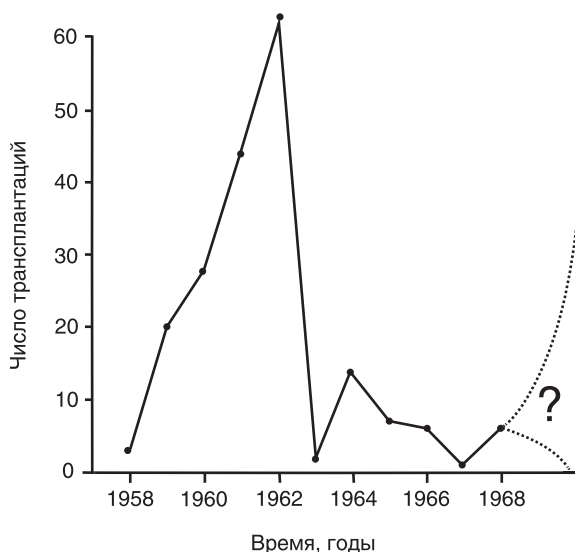


Рисунок 1. Опубликованные данные по трансплантациям человеческого костного мозга. Адаптировано из [12].

Вопросы иммунологической совместимости и связанных с нею осложнений будут рассмотрены в следующих главах.

Для того чтобы понимать, что происходит в кроветворной системе после трансплантации, необходимо учитывать данные о том, как происходит нормальное кроветворение.

Краткие основы кроветворения

В эмбриогенезе кроветворная система образуется и функционирует по принципу репопуляции — последовательного заселения стромы кроветворных органов на начальном этапе образования взрослых клеток крови. И во взрослом организме стволовые и зрелые кроветворные клетки постоянно перемещаются и заселяют новые территории. Система находится в непрерывном движении. За систематическое образование огромного количества зрелых клеток крови, их коммитированных предшественников отвечают ГСК. На рис. 2 представлена схема кроветворения, основанная на представлениях конца XX — начала XXI века. Сейчас эта схема претерпела значительные изменения (рис. 5). ГСК пролиферируют и образуют сначала различные полипотентные, затем олиго-монопотентные и, наконец монопотентные клетки-предшественницы, из которых путем деления и дифференцировки образуются зрелые клетки крови.

Основные характеристики ГСК подробно изложены в первой главе книги «Клиническая онкогематология» под редакцией М. А. Волковой (Чертков, Дризе, 2007 [16]).

В настоящее время научились получать фракции клеток, обогащенные теми или иными предшественниками по экспрессии специфических поверхностных молекул. Для человека показано, что клетки, экспрессирующие на своей поверхности гликопротеин, названный кластером дифференцировки 34 (CD34), относятся к категории ранних кроветворных предшественников, включающих ГСК [17].

Поддержание кроветворения регулируется стромальным микроокружением костного мозга. ГСК и клетки-предшественницы находятся в так называемых «кроветворных нишах». В состав ниши входят клеточные и молекулярные компоненты стромы костного мозга, которые взаимодействуют с ГСК с помощью различных клеточных механизмов для обеспечения поддержания роста, пролиферации и дифференцировки и, главное, сохранения этих клеток в состоянии покоя [18]. Ниша — это комплексное образование, состоящее из эндотелиальных клеток, мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК), макрофагов и периваскулярных стромальных клеток, которые способствуют самообновлению ГСК, продуцируя фактор роста стволовых клеток (SCF), хемокин SDF1 (CXCL12) и другие регулирующие молекулы. Вполне вероятно участие и других клеток. Все структурные элементы (эндотелиальные клетки, МСК, макрофаги, остеокласты/остеобласты) необходимы для кроветворения. Перекрестная связь между ними обеспечивает рост ГСК, их состояние покоя и самообновления в сочетании с подвижностью, пролиферацией и дифференцировкой в зависимости от запроса, сохраняя их потенциал к репопуляции [19, 20].

Как происходит трансплантация? Почему введенные внутривенно клетки аллогенного костного мозга попадают в строму костного мозга, сколько клеток попадает в костный мозг? Как это часто бывает в клинической практике, ответы на эти вопросы были получены через несколько лет после начала эффективного применения алло-ТГСК.

Пути попадания в костный мозг внутривенно введенных кроветворных клеток

Для успешного восстановления кроветворения после трансплантации необходимо, чтобы ГСК попали в костный мозг и в дальнейшем прижились в нишах, поддерживающих их пролиферацию и дифференцировку. Это быстрый и скоординированный процесс, в котором введен-

ные внутривенно циркулирующие клетки активно проникают в костный мозг за счет миграции через клетки эндотелия по градиенту концентрации хемокина SDF1 (CXCL12), синтезируемого стромальными клетками (рис. 3). На поверхности кроветворных клеток имеется рецептор к этому хемокину CXCR4, без участия которого ни одна клетка не может попасть в костный мозг, где происходит кроветворение. Кроветворные клетки прилипают к клеткам эндотелия сосуда, затем катятся за счет специфических молекул адгезии и наконец просачиваются между клетками эндотелия и через базальную мембрану, проникая в строму костного мозга. В этом процессе принимают участие различные молекулы адгезии, хемокины, гликопротеины и интегрины, присутствующие как на поверхности стволовых клеток, так и на эндотелии сосудов [21]. Для поддержания нормального кроветворения ГСК должны попасть в нишу и начать производство различных клеток-предшественниц, для выживания и дифференцировки которых требуется большое количество различных ростовых факторов и цитокинов. Не все факторы продуцируются клетками ниши, многие попадают в нее извне или синтезируются самими кроветворными клетками-предшественниками [22].

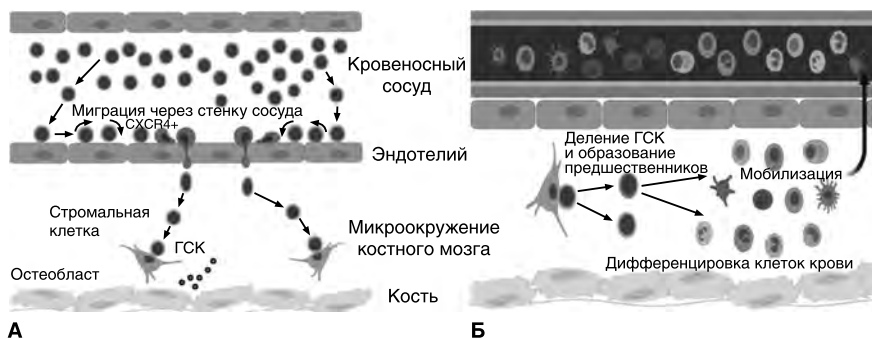


Рисунок 3. Диаграмма, представляющая механизм приживления: новые ГСК принимают нишу костного мозга реципиента за свою собственную и начинают использовать ее возможности для кроветворения. Это приводит к получению новых, бездефектных предшественников и зрелых клеток, которые отсутствуют у реципиента. **А.** Миграция трансплантированных клеток в строму костного мозга. **Б.** Дифференцированные клетки донора мобилизуются и попадают в кровоток, обеспечивая восстановление показателей крови. Адаптировано из [21].

На мышинной модели было показано, что примерно 1/6 часть введенных клеток сингенного костного мозга попадает в костный мозг реципиента, 1/6 часть — в селезенку, которая у мыши относится к кроветворным органам, и 2/3 введенных клеток не используются [23].

Сейчас стало ясно, что утверждение о том, что 2/3 введенных клеток не используются, было связано с тем, что во время проведенных экспериментов еще не было известно, что кроветворная территория в бедрах и голених мышей, которые были изучены в этой работе, составляет всего 14% от всей в организме [24]. Основные кроветворные территории располагаются в позвонках и костях черепа. Несмотря на высокую эффективность заселения костного мозга после трансплантации, до сих пор не доказано, что все введенные клетки попадают в костный мозг.

Известно, что достаточно одной ГСК для восстановления кроветворения у облученной мыши, однако реципиент не выживет, если не ввести вместе с ГСК еще 200 000 клеток костного мозга [25]. Эти 200 000 клеток могут не содержать стволовых, однако способны продуцировать необходимые для пролиферации и дифференцировки ГСК факторы и с течением времени могут быть полностью замещены потомками введенной истинно стволовой клетки. ГСК — это гетерогенная популяция клеток, несущих различные маркеры. Маркеры ГСК у мышей отличаются от таковых у человека. Для выделения ГСК у мышей часто используют популяцию клеток, не имеющих маркеров линейных дифференцировок (Lin—), экспрессирующих на поверхности рецептор к фактору роста стволовых клеток (ckit+) и так называемый антиген стволовых клеток (sca1+). Для клеток человека в качестве маркера популяции ГСК используют молекулу адгезии — гликопротеин, выделенный как кластер дифференцировки CD34.

Помимо исследований на мышинной модели был проведен многофакторный регрессионный анализ эффективности приживления трансплантата у пациентов после алло-ТГСК. Было показано, что более высокая доза CD34+ клеток ($5,5 \times 10^6/\text{кг}$ по сравнению с $2,21 \times 10^6/\text{кг}$) связана с более низким риском развития недостаточности трансплантата (2,89% по сравнению с 5,6%; $p = 0,015$) [26, 27]. Авторы предполагают, что в случае использования дозы CD34+ клеток более $5 \times 10^6/\text{кг}$ резко повышается шанс нормального функционирования трансплантата. Совокупность этих фактов объясняет, почему требуется большой избыток клеток костного мозга для успешного приживления ГСК и восстановления кроветворения после трансплантации.

На приживление и функционирование трансплантата влияют инфекционные осложнения после алло-ТГСК. Цитомегаловирусная инфекция — одно из частых осложнений и встречается примерно у 30—70% пациентов [28]. Цитомегаловирус может подавлять гемопоэз напрямую путем инфицирования кроветворных клеток костного мозга или косвенно через поражение стромальных клеток [29]. Более того, применяемые для лечения этой инфекции противовирусные препара-

ты, такие как ганцикловир, оказывают подавляющее действие на функции костного мозга [30]. Вирус герпеса человека 6 (HHV-6) тесно связан с цитомегаловирусом. Показано, что, задержка приживления трансплантата ассоциирована с инфекцией, вызванной HHV-6, особенно при ее ранней реактивации у пациентов после алло-ТГСК [31].

Приживление трансплантата затрудняется при наличии у пациента донор-специфических антител, перегрузки железом и спленомегалии, а также развитии РТПХ [32].

С появлением метода конфокальной микроскопии удалось увидеть трехмерную архитектуру ткани костного мозга *in situ*. Цельные образцы ткани костного мозга были окрашены иммунофлуоресцентными красителями и отображены в 3 измерениях по конфокальной флуоресценции и отражательной микроскопии [33]. Для визуализации восстановления костного мозга после трансплантации использовали костный мозг генетически модифицированных мышей, которые экспрессировали флуоресцентный зеленый белок EGFP во всех клетках организма. Изучали 2 группы летально облученных животных, которых восстанавливали либо цельным костным мозгом, либо популяцией выделенных из костного мозга EGFP-мышей стволовых клеток Lin-ckit+sca1+ (LSK). Цельные образцы костного мозга были исследованы в разные моменты времени.

В ткани костного мозга мышей, которым трансплантировали цельный костный мозг, донорские EGFP+ клетки были обнаружены уже в первые сутки (4,6%). Через 7 суток их количество увеличивалось до 37%, распространяясь от края кости к центру костномозговой полости, и достигало 66% к 28-м суткам. Если мышам трансплантировали отсортированные стволовые клетки, динамика заселения костного мозга сильно замедлялась. В первые сутки после трансплантации не были обнаружены клетки донора, только на 7-е сутки выявлялось 4,3% донорских клеток, однако уже к 28-му дню их стало 47%. Доза донорских клеток, введенных животным, которым трансплантировали костный мозг, была в 1000 раз больше, чем использованная доза стволовых клеток. Суммарное число ГСК в обеих группах было одинаковым. Эти данные демонстрируют влияние источника трансплантата на восстановление кроветворения.

Различия в источниках трансплантата

Понадобилось почти 25 лет использования алло-ТГСК для открытия возможности мобилизовать ГСК из костного мозга в периферическую кровь. Изучение действия гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) на кроветворную систему у мышей, собак и обезьян

показало, что введение 5–10 мкг/кг этого цитокина в течение 4–5 дней приводит к выходу ГСК из стромы костного мозга в циркуляцию [34]. Г-КСФ стимулирует нейтрофилы к выделению множества ферментов, разрушающих связи ГСК с нишей, более того, Г-КСФ угнетает синтез хемокина SDF1, и в результате большинство ГСК, более зрелых клеток-предшественниц разной степени дифференцированности и зрелых клеток мигрируют в периферическую кровь. Эта особенность ГСК и других кроветворных клеток покидать костный мозг под действием Г-КСФ открыла новый источник трансплантата, отличающийся по своим свойствам от цельного костного мозга. Однако трансплантация мобилизованных ГСК повышает частоту возникновения хронической РТПХ по сравнению с трансплантацией костного мозга, из-за чего костный мозг остается предпочтительным источником ГСК для пациентов с незлокачественными заболеваниями, такими как апластическая анемия или гемоглобинопатии. Тем не менее мобилизованные ГСК продолжают быть преобладающим источником трансплантата для пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями, частично из-за предпочтений донора [1].

В первые годы XXI века наблюдался большой рост алло-ТГСК, частично из-за расширенного применения немиелоаблативных режимов или схем кондиционирования с пониженной интенсивностью. Такое нововведение позволило включить в лечение с помощью алло-ТГСК более пожилых пациентов и, отчасти, увеличить использование альтернативных источников трансплантата: HLA-гаплоидентичных родственников и пуповинной крови [1].

Использование пуповинной крови в качестве источника ГСК началось в 1990-е годы. Клетки пуповинной крови иммунологически наивны, и допустимо большее несоответствие донора по HLA-антигенам с реципиентом, чем при других источниках. Это позволило проводить трансплантацию пациентам, у которых не было HLA-идентичных доноров [35]. Дозы ГСК из пуповинной крови достаточно только для детей весом не более 10 кг. Несколько групп предложили использовать не одну, а несколько доз частично HLA-совместимых неродственных единиц пуповинной крови для трансплантации [36, 37]. Исход этих трансплантаций был сопоставим с результатами трансплантаций от неродственных доноров [38]. Однако в последующих исследованиях было показано, что трансплантация костного мозга от гаплоидентичного донора предпочтительнее нескольких доз пуповинной крови, так как общая выживаемость пациентов оказалась достоверно выше [39].

При сравнении костного мозга, мобилизованных в периферическую кровь ГСК и пуповинной крови были выявлены различные свойства этих источников трансплантата (табл. 1) [40].

Таблица 1. Характеристики трансплантата в зависимости от источника и показатели восстановления периферической крови после трансплантации

Источник ГСК	Характеристики трансплантата		
	CD3+ Т-клетки ($\times 10^6/\text{кг}$)	CD34+ клетки ($\times 10^6/\text{кг}$)	
Костный мозг	33,27 $\pm$ 3,37	3,48 $\pm$ 0,52	
Мобилизованные в периферическую кровь ГСК	245,3 $\pm$ 7,71	6,2 $\pm$ 0,57	
Пуповинная кровь	13 $\pm$ 1,48	0,2 $\pm$ 0,06	
	Восстановление после трансплантации (дни)		
	Нейтрофилы ($> 0,5 \times 10^9/\text{л}$)	Тромбоциты ($> 20 \times 10^9/\text{л}$)	Тромбоциты ($> 50 \times 10^9/\text{л}$)
Костный мозг	18,67 $\pm$ 2,28	17,0 $\pm$ 1,7	31,75 $\pm$ 4,15
Мобилизованные в периферическую кровь ГСК	16,0 $\pm$ 0,84	11,8 $\pm$ 0,37	14,8 $\pm$ 0,86
Пуповинная кровь	21,3 $\pm$ 2,5	29,7 $\pm$ 2,67	39,5 $\pm$ 2,5

В трансплантате учитывают содержание Т-клеток, так как эти клетки донора могут начать атаку тканей реципиента до восстановления донорского кроветворения, и количество CD34+ клеток, отражающих качество трансплантата и его репопуляционный потенциал.

Преимущества трансплантации мобилизованных стволовых клеток периферической крови включают более быструю скорость приживления трансплантата по сравнению с костным мозгом, где восстановление занимает около 2 недель в первом случае и откладывается еще на 5 дней во втором [41], но использование последующего режима иммуносупрессии трансплантата для предотвращения РТПХ может продлить время, необходимое для нормализации продукции зрелых клеток крови. Более того, частота острой РТПХ, по-видимому, аналогична таковой при трансплантации костного мозга у HLA-идентичных родственных доноров [41]. Однако хроническая РТПХ чаще встречается после трансплантации ГСК периферической крови, что может привести к большему количеству осложнений [42]. В исследовании Anasetti et al. оценивали разницу в 2-летней общей выживаемости, которая оказалась несущественной между группами пациентов, которым вводили костный мозг и мобилизованные клетки периферической крови. Тем не менее дальнейший анализ показал более стабильное функционирование трансплантатов и, соответственно, снижение частоты несостоятельности трансплантата в группе, которой была проведена трансплантация ГСК периферической крови [43]. Другие аналогичные исследования, сравнивающие трансплантацию костного мозга и ГСК периферической крови, пришли к выводу, что психологическая нагрузка

из-за хронической РТПХ и 5-летняя способность восстанавливать нормальную активность, включая возвращение к работе, были лучше в группе с трансплантированным костным мозгом [42]. Появились новые данные о поведении ГСК после трансплантации мобилизованных клеток периферической крови. Через 4 недели после трансплантации в этом случае в основном функционируют более дифференцированные кроветворные предшественники, чем после трансплантации цельного костного мозга [44]. Авторы предполагают, что это может повлиять на спектр осложнений, в том числе и отдаленных, после трансплантации.

Преимущества трансплантации пуповинной крови включают в себя возможность быстрого сбора ГСК и их введения при неотложных состояниях, меньшую частоту инфекционных осложнений, более низкие показатели РТПХ при той же эффективности реакции «трансплантат против лейкоза», меньшую потребность в строгой HLA-идентичности. К недостаткам можно отнести отсроченное приживание трансплантата с более высокой вероятностью отторжения трансплантата и более высокой частотой рецидивов заболевания. Трансплантация пуповинной крови чаще всего используется у пациентов, не имеющих родственных или неродственных доноров. В крупном исследовании Locatelli et al. продемонстрировали эффективность трансплантации пуповинной крови у пациентов с талассемией и серповидноклеточной анемией и показали аналогичную 6-летнюю общую выживаемость в группах трансплантаций пуповинной крови и костного мозга [45].

Кроветворная система после трансплантации

Мы рассмотрели современные данные о том, что происходит в костном мозге в течение 1–2 месяцев после трансплантации. Попытки проанализировать состояние кроветворения через более длительный промежуток времени показали, что даже при самом благоприятном исходе процедуры кроветворение после трансплантации отличается от такового при обычном стабильном кроветворении. Изучение концентрации колоний кроветворных предшественников — эритроидных, гранулоцитарных, макрофагальных и других — выявило значительное их снижение (более чем в 2 раза) в костном мозге пациентов как до алло-ТГСК, так и в течение 4 лет после по сравнению с донорами костного мозга и людей соответствующего возраста (рис. 4).

«Классический» взгляд на гематопоз предполагает, что ГСК находятся на вершине иерархии и их дифференцировка включает последовательное продуцирование мультипотентных потомков и затем олигомонопотентных, с ограниченной способностью к самообновлению. Это представление о кроветворении, безусловно, актуально после транс-

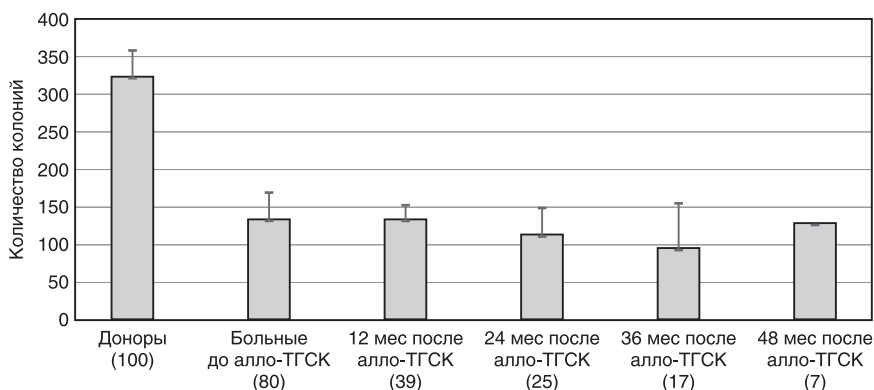


Рисунок 4. Суммарное количество колоний кроветворных предшественников в костном мозге доноров и больных после алло-ТГСК (на 2×10^5 клеток костного мозга). Адаптировано из [46, 47].

плантации ГСК. Однако неясно, выполняют ли ГСК ту же функцию при стабильном кроветворении. Современные исследования показали, что большинство классических ГСК не участвуют в поддержании постоянного стабильного гемопоэза у взрослых. Несколько работ предполагают, что устойчивое кроветворение зависит от высоко пролиферирующих клеток, находящихся в иерархии ниже стволовых [48]. В связи с этими новыми данными была пересмотрена «классическая» схема кроветворения и предложен принципиально новый подход к пониманию механизмов образования зрелых клеток крови (рис. 5). ГСК — это гетерогенная популяция клеток. Секвенирование РНК из единичных клеток показало, что пролиферативный статус — одна из основных особенностей гетерогенности ГСК [49, 50]. У мышей ГСК можно разделить на относительно быстро пролиферирующие клетки, которые делятся каждые 36 дней (80—85% популяции), и клетки, находящиеся в состоянии относительного покоя (15—20% популяции), которые делятся каждые 145 дней [51]. Эти различия в характеристиках клеточного цикла отражают различия в способности к трансплантации, причем клетки, находящиеся в фазе G0 клеточного цикла, обладают самой высокой способностью к приживлению после трансплантации [52]. ГСК из эндостальных ниш обладают большей способностью к трансплантации по сравнению с ГСК в более доступной центральной нише [53], что отражается в различиях их пролиферативного потенциала и мест заселения костного мозга после трансплантации [54].

Вместе эти результаты предполагают, что либо трансплантируемые ГСК играют гораздо более ограниченную роль в стабильном гемопоэ-

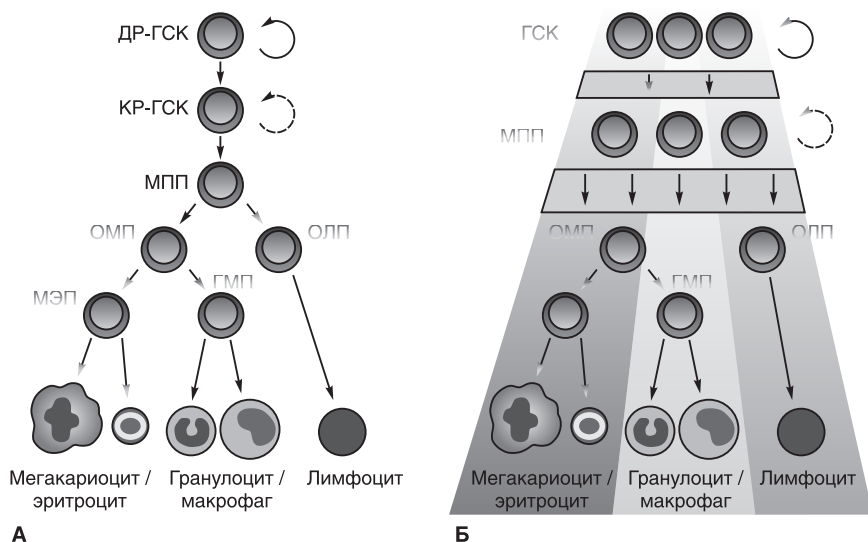


Рисунок 5. Развивающиеся концепции кроветворения. **А.** «Классическая» модель кроветворения. **Б.** Модель кроветворения, включающая недавние открытия, в том числе гетерогенность ГСК и выход в дифференцировку в зависимости от происхождения; и возможности самообновления мультипотентных предшественников на основе устойчивого вклада на месте. ГМП — предшественники гранулоцитов/макрофагов; ДР-ГСК — длительно репопулирующие и поддерживающие кроветворение ГСК; КР-ГСК — коротко репопулирующие и поддерживающие кроветворение ГСК; МПП — мультипотентные предшественники; МЭП — мегакариоцитарные/эритроидные предшественники; ОЛП — общий предшественник лимфоцитов; ОМП — общий миелоидный предшественник. Адаптировано из [48].

эзе, чем считалось ранее, либо существует компенсация на уровне примитивных предшественников (или остаточных ГСК) в отсутствие нормального количества классических ГСК.

Недавнее исследование показало, что 86% клеток, продуцируемых ГСК после трансплантации, представляют собой красный клеточный росток кроветворения [55], подчеркивая значительный вклад ГСК в развитие эритроидной линии дифференцировки. По оценке *in vitro* у людей с апластической анемией также снижено количество фенотипических ГСК и их функция по сравнению со здоровым контролем [56]. Несмотря на значительную потерю ГСК, количество клеток-предшественниц гранулоцитов/макрофагов уменьшено не так сильно, как линии мегакариоцитов / эритроидных клеток [57]. Таким образом, если предположить, что у этих пациентов нет специфического дефекта эритроидной линии кроветворения, оказывается, что

устойчивое производство клеток эритроидной дифференцировки в гораздо большей степени зависит от ГСК, а не от мультипотентных предшественников с высоким пролиферативным потенциалом (МПП) [57].

Недавние публикации предполагают, что подмножество ГСК, праймированных для продукции тромбоцитов, способствуют долгосрочному гемопоэзу после трансплантации [58]. Эти клетки находятся на вершине иерархии ГСК, по крайней мере в ранний период после трансплантации [59]. Трансплантация может неточно отражать особенности кроветворения при нормальном физиологическом состоянии. Например, в двух исследованиях сообщалось, что трансплантированные ГСК могут генерировать все клеточные компоненты крови, хотя тенденция их дифференцировки смещается в сторону определенных клонов в устойчивом состоянии [58, 60]. Кроме того, в процессе выделения ГСК установлено, что механическое повреждение и условия культивирования *ex vivo* могут изменять статус ГСК. Предварительное кондиционирование реципиентов с помощью облучения или химиотерапией разрушает нишу ГСК, которая важна для приживания ГСК после трансплантации [61, 62]. Помимо стресса, вызванного трансплантацией, инфекция или воспаление, вызванные травмой, могут изменять выход ГСК в дифференцировку при нормальном кроветворении. Провоспалительные факторы, такие как макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ) и интерферон- γ , могут напрямую индуцировать продукцию миелоидных клеток из ГСК для эффективной защиты от повреждений [63]. Более того, быстрое образование мегакариоцитов непосредственно из ГСК также может быть индуцировано при воспалительных условиях [64]. Это может служить одним из возможных объяснений того, почему сегрегация мегакариоцитов происходит рано. Эти стрессовые состояния могут влиять как на определение судьбы, так и на статус ГСК.

Новейшие исследования показывают, что в естественном состоянии кроветворение в значительной степени поддерживается мультипотентными предшественниками, а также частью ГСК, в то время как в стрессовых условиях нарушенный гемопоэз восполняется в основном за счет ГСК (рис. 6).

Все эти работы показывают, что кроветворение после трансплантации изменено и видимо никогда не возвращается в стабильное состояние, соответствующее нормальному.

В поддержании кроветворения участвуют не только ГСК, но и клетки стромального микроокружения.

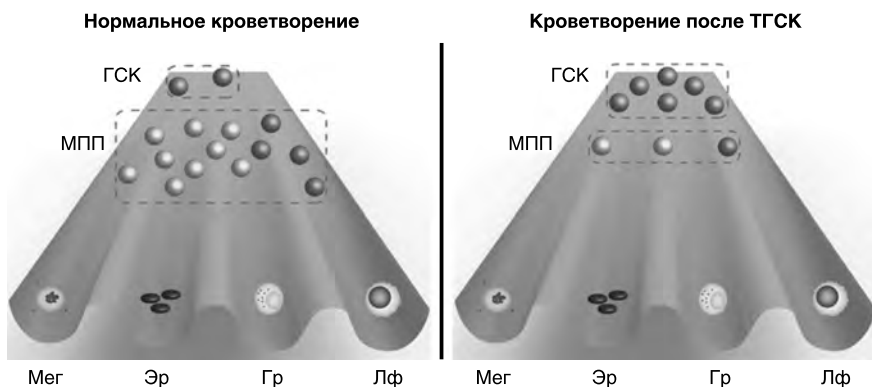


Рисунок 6. Схематические модели, показывающие кроветворение в разных физиологических условиях. Адаптировано из [65]. При нормальном кроветворении (слева) кроветворение поддерживается главным образом мультипотентными предшественниками. В стрессовых условиях, связанных с трансплантацией (справа), гемопоэз преимущественно регенерирует за счет трансплантированных ГСК, которые могут продуцировать полный спектр гемопоэтических клонов. Гр — гранулоциты; Лф — лимфоциты; Мег — мегакариоциты; МПП — мультипотентные предшественники; Эр — эритроциты.

Взаимное влияние кроветворных и стромальных клеток

При алло-ТГСК у пациента приживаются только кроветворные клетки, стромальные клетки при внутривенном введении не попадают в костный мозг [66]. На поверхности стромальных клеток не экспрессирован рецептор CXCR4 к хемокину SDF1, и они не могут преодолеть стенку сосуда по градиенту концентрации этого хемокина.

Для проведения алло-ТГСК используются различные режимы кондиционирования — летальное или сублетальное облучение всего тела, различные дозы цитостатиков и препаратов-антиметаболитов, оказывающих цитотоксическое и иммунодепрессивное действие, что приводит к полному ингибированию кроветворения и серьезному повреждению стромы костного мозга [67, 68]. Кондиционирование проводится для элиминации собственного кроветворения, включая остаточные опухолевые клетки. При этом освобождаются ниши для донорских ГСК.

Покоящиеся ГСК имеют низкое содержание активных форм кислорода [69, 70], которое необходимо для сохранения их репопуляционного потенциала. При стабильном кроветворении уровни активных

форм кислорода в ГСК колеблются в соответствии с циркадными ритмами (сигналами света/темноты) [71]. Такие циклические изменения ГСК при регенеративном стрессе после трансплантации вызывают накопление избыточных активных форм кислорода, что может привести к гемопоэтической недостаточности в отсутствие защитных сигналов от стромального микроокружения [70]. Показано, что у пациентов с недостаточной функцией трансплантата в костном мозге уменьшена частота встречаемости МСК, обнаруживается большее число клеток, находящихся в апоптозе, и имеются выраженные признаки старения стромального микроокружения [72]. В МСК этих пациентов повышен уровень внутриклеточных активных форм кислорода, белков p-53 и p-21, что может объяснять их недостаточную функцию в поддержании кроветворения. В костномозговой нише при нормальном кроветворении снижено содержание кислорода, что влияет на выживание и метаболизм ГСК путем их защиты от окислительного стресса. Серия исследований показала, что при трансплантации одинакового количества донорских CD34+ клеток после алло-ТГСК процентное соотношение CD34+ клеток в костном мозге у пациентов с недостаточной функцией трансплантата было значительно ниже по сравнению с таковым у пациентов с относительно полноценным функционированием трансплантата [73, 74]. Повышенные уровни активных форм кислорода связаны с истощением покоящихся CD34+ клеток после алло-ТГСК, даже если CD34+ клетки от доноров были функционально нормальны до проведения алло-ТГСК.

Кондиционирование перед алло-ТГСК повреждает МСК и вызывает дисфункцию в их митохондриях [68]. Здоровые трансплантированные ГСК переносят митохондрии в поврежденные МСК. Этот процесс требует экспрессии белка Sx43 и низкой активности аденозин-5'-монофосфат-активируемой протеинкиназы в кроветворных клетках-предшественниках. Перенесенные митохондрии функционируют в МСК реципиента и вызывают быстрое восстановление микроокружения и кроветворной ниши, улучшая восстановление кроветворения после алло-ТГСК [75]. Перенос митохондрий от кроветворных клеток-предшественниц, полученных от здорового донора, способствует регенерации стромы костного мозга и восстановлению кроветворения после облучения. Снабжение МСК функциональными митохондриями индуцирует их пролиферацию, может способствовать их дифференцировке и уменьшать воспалительное воздействие цитокинов [76].

Дифференцировка МСК очень важна для поддержания нормального кроветворения. Взаимосвязь между гемопоэзом и дифференцировкой адипоцитов в костном мозге была обнаружена давно и наблюдалась в экспериментах и в клинике [77]. В областях активного кроветво-

рения в красном костном мозге количество липидных капелек в адипоцитах значительно снижено по сравнению с желтым костным мозгом. Напротив, при тяжелых миелосупрессивных состояниях, таких как апластическая анемия, или после облучения, при повреждении кроветворных тканей в адипоцитах увеличивается содержание липидов, что указывает на жировые изменения в костном мозге [77]. Исходя из этих данных, адипоциты считались «заполнителем пространства» в костном мозге. Считалось, что остеогенез способствует гемопоэзу, тогда как адипоциты представляют негативные регуляторы кроветворения [78]. Было продемонстрировано в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, что адипоциты костного мозга представляют себя как негативные регуляторы гемопоэза и ингибируют рост кроветворных клеток [79]. Баланс между остеогенезом и адипогенезом влияет на кроветворение и определяется направлением дифференцировки МСК — источника этих клеток в костном мозге [80]. Увеличение количества адипоцитов в костном мозге способствует непропорциональному увеличению образования остеокластов — клеток кроветворного происхождения, осуществляющих резорбцию кости [81], что влечет за собой уменьшение количества ниш для ГСК.

Дифференцировка МСК контролируется сложной сигнальной сетью. Runx2 и Osterix представляют собой ключевые факторы транскрипции при остеогенной дифференцировке, тогда как PPAR γ и C/EBP α при адипогенной. Связанные со стрессовым состоянием изменения напрямую мешают дифференцировке МСК. Старение, облучение и химиотерапия могут вызвать ряд событий, регулирующих ключевые факторы транскрипции Runx2 и PPAR γ , приводя к сдвигу адипо-остеогенного баланса.

Совокупность этих данных указывает на то, что МСК изменены у пациентов после алло-ТГСК и что улучшение их функций может стать перспективной терапевтической стратегией.

Заключение

Трансплантация костного мозга — это очень сложный процесс, и его успешность зависит от множества факторов. Трансплантированные кроветворные клетки должны содержать достаточное количество ГСК и поддерживающих их клеток. ГСК должны обладать способностью к репопуляции и высоким пролиферативным потенциалом. От источника ГСК и сопутствующих клеток многое зависит при восстановлении кроветворения после трансплантации. Степень повреждения стромального микроокружения пациента и сопутствующие инфекционные заболевания играют важную роль в поддержании кроветворения после

трансплантации. Большое значение для кроветворения имеет развитие РТПХ.

Физиологически нормальное поддержание кроветворения определяет дальнейшую судьбу организма. Были рассмотрены только самые важные факторы, регулирующие кроветворение после трансплантации, выявленные в последние годы. Методы исследования развиваются в настоящее время намного быстрее, чем 50 лет назад, когда начали применять этот метод лечения. Очевидно, что многое мы еще не знаем, но наверняка новые данные расширят понимание того, как улучшить стратегию лечения пациентов с патологией в кроветворной системе.

Литература

1. Granot N, Storb R. History of hematopoietic cell transplantation: challenges and progress. *Haematologica* 2020; 105:2716—2729.
2. Gratwohl A, Pasquini M, Aljurf M et al. One million haemopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study. *Lancet Haematol* 2015; 2:91—100.
3. Singh AK, McGuirk JP. Allogeneic stem cell transplantation: A historical and scientific overview. *Cancer Res* 2016; 76:6445—6451.
4. Jacobson LO, Marks EK, Gaston EO et al. The role of the spleen in radiation injury. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949; 70:740—742.
5. Lorenz E, Uphof D, Reid TR, Shelton E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst* 1951; 12:197—201.
6. Main JM, Prehn RT. Successful skin homografts after the administration of high dosage X radiation and homologous bone marrow. *J Natl Cancer Inst* 1955; 15:1023—1029.
7. Siminovitch L, McCulloch EA, Till JE. The distribution of colony-forming cells among spleen colonies. *J Cell Comp Physiol* 1963; 62:327—336.
8. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 1961; 14:213—222.
9. McBride WH, Schaeue D. Radiation-induced tissue damage and response. *J Pathol* 2020; 250:647—655.
10. Barnes DWH, Corp MJ, Loutit JF, Neal FE. Treatment of murine leukaemia with X rays and homologous bone marrow. *Br Med J* 1956; 2(4993):626—627.
11. Thomas ED, Lochte HL, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med* 1957; 257:491—496.
12. Bortin MM. A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation* 1970; 9:571—587.
13. Mathé G, Amiel JL, Schwarzenberg L et al. Adoptive immunotherapy of acute leukemia: Experimental and clinical results. *Cancer Res* 1965; 25:1525—1531.
14. Epstein RB, Storb R, Ragde H, Thomas ED. Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs. *Transplantation* 1968; 6:45—58.

15. Воробьев А. А., Дризе Н. И., Чертков И. Л. Схема кроветворения. Проблемы гематологии 1995; 1:7—14.
16. Чертков И. Л., Дризе Н. И. Стволовые клетки в кроветворении // Клиническая онкогематология / под ред. М. А. Волковой. М.: Медицина, 2007. С. 12—32.
17. Bryder D, Rossi DJ, Weissman IL. Hematopoietic stem cells: the paradigmatic tissue-specific stem cell. *Am J Pathol* 2006; 169:338—346.
18. Taichman RS. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood* 2005; 105(7):2631—2639.
19. Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature* 2014; 505:327—334.
20. Wei Q, Frenette PS. Niches for hematopoietic stem cells and their progeny. *Immunity* 2018; 48:632—648.
21. Chander V, Gangenahalli G. Emerging strategies for enhancing the homing of hematopoietic stem cells to the bone marrow after transplantation. *Exp Cell Res* 2020; 390:111954.
22. Metcalf D. Hematopoietic cytokines. *Blood* 2008; 111:485—491.
23. Wolf NS, Trentin JJ. Hemopoietic colony studies. V. Effect of hemopoietic organ stroma on differentiation of pluripotent stem cells. *J Exp Med* 1968; 127:205—214.
24. Colvin GA, Lambert JF, Abedi M et al. Murine marrow cellularity and the concept of stem cell competition: geographic and quantitative determinants in stem cell biology. *Leukemia* 2004; 18(3):575—583.
25. Szilvassy SJ, Humphries RK, Lansdorp PM et al. Quantitative assay for totipotent reconstituting hematopoietic stem cells by a competitive repopulation strategy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87:8736—8740.
26. Sun YQ, He GL, Chang YJ et al. The incidence, risk factors, and outcomes of primary poor graft function after unmanipulated haploidentical stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2015; 94:1699—1705.
27. Zhao Y, Gao F, Shi J et al. Incidence, risk factors, and outcomes of primary poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25:1898—1907.
28. Cho SY, Lee DG, Kim HJ. Cytomegalovirus infections after hematopoietic stem cell transplantation: Current status and future immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2019; 20(11):2666.
29. Torok-Storb B, Boeckh M, Hoy C et al. Association of specific cytomegalovirus genotypes with death from myelosuppression after marrow transplantation. *Blood* 1997; 90:2097—2102.
30. Shmueli E, Or R, Shapira MY et al. High rate of cytomegalovirus drug resistance among patients receiving preemptive antiviral treatment after haploidentical stem cell transplantation. *J Infect Dis* 2014; 209(4):557—561.
31. Betts BC, Young JAH, Ustun C et al. Human herpesvirus 6 infection after hematopoietic cell transplantation: Is routine surveillance necessary? *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17:1562—1568.

32. Chen J, Wang H, Zhou J, Feng S. Advances in the understanding of poor graft function following allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Ther Adv Hematol* 2020; 11:2040620720948743.
33. Takaku T, Malide D, Chen J et al. Hematopoiesis in 3 dimensions: human and murine bone marrow architecture visualized by confocal microscopy. *Blood* 2010; 116:e41—e55.
34. Bensinger WI, Clift RA, Anasetti C et al. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Stem Cells* 1996; 14:90—105.
35. Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chamard A et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N Engl J Med* 1997; 337:373—381.
36. Brunstein CG, Laughlin MJ. Extending cord blood transplant to adults: Dealing with problems and results overall. *Semin Hematol* 2010; 47:86—96.
37. Scaradavou A, Brunstein CG, Eapen M et al. Double unit grafts successfully extend the application of umbilical cord blood transplantation in adults with acute leukemia. *Blood* 2013; 121:752—758.
38. Bachanova V, Burns LJ, Wang T et al. Alternative donors extend transplantation for patients with lymphoma who lack an HLA matched donor. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50:197—203.
39. Fuchs EJ, O'Donnell PV, Eapen M et al. Double unrelated umbilical cord blood vs HLA-haploidentical bone marrow transplantation: the BMT CTN 1101 trial. *Blood* 2021; 137:420—428.
40. Báez A, Martín-Antonio B, Piruat JJ et al. Gene and miRNA expression profiles of hematopoietic progenitor cells vary depending on their origin. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20:630—639.
41. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med* 2001; 344:175—181.
42. Lee SJ, Logan B, Westervelt P et al. Comparison of patient-reported outcomes in 5-year survivors who received bone marrow vs peripheral blood unrelated donor transplantation: long-term follow-up of a randomized clinical trial. *JAMA Oncol* 2016; 2(12):1583—1589.
43. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ et al. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med* 2012; 367:1487—1496.
44. Kordelas L, Görgens A, Radtke S et al. Allogeneic transplantation of peripheral blood stem cell grafts results in a massive decrease of primitive hematopoietic progenitor frequencies in reconstituted bone marrows. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55:100—109.
45. Locatelli F, Kabbara N, Ruggeri A et al. Outcome of patients with hemoglobinopathies given either cord blood or bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling. *Blood* 2013; 122:1072—1078.
46. Thomas ED, Storb R, Clift RA et al. Bone-marrow transplantation. *N Engl J Med* 1975; 292:895—902.
47. Blume KG, Thomas ED. A history of allogeneic and autologous hematopoietic cell transplantation. In: Forman SJ, Negrin RS, Antin JH, Appelbaum FR (edi-

- tors). Thomas' hematopoietic cell transplantation: Stem cell transplantation. 5th edition. Chichester (UK): Wiley-Blackwell; 2016. P. 1–11.
48. McRae HM, Voss AK, Thomas T. Are transplantable stem cells required for adult hematopoiesis? *Exp Hematol* 2019; 75:1–10.
 49. Bernitz JM, Kim HS, MacArthur B et al. Hematopoietic stem cells count and re-emerge self-renewal divisions. *Cell* 2016; 167:1296–1309.e10.
 50. Lauridsen FKB, Jensen TL, Rapin N et al. Differences in cell cycle status underlie transcriptional heterogeneity in the HSC compartment. *Cell Rep* 2018; 24:766–780.
 51. Wilson A, Laurenti E, Oser G et al. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell* 2008; 135:1118–1129.
 52. Passegué E, Wagers AJ, Giuriato S et al. Global analysis of proliferation and cell cycle gene expression in the regulation of hematopoietic stem and progenitor cell fates. *J Exp Med* 2005; 202:1599–1611.
 53. Gong K. Endosteal marrow: A rich source of hematopoietic stem cells. *Science* 1978; 199(4336):1443–1445.
 54. Nilsson SK, Johnston HM, Coverdale JA. Spatial localization of transplanted hemopoietic stem cells: Inferences for the localization of stem cell niches. *Blood* 2001; 97:2293–2299.
 55. Boyer SW, Rajendiran S, Beaudin AE et al. Clonal and quantitative in vivo assessment of hematopoietic stem cell differentiation reveals strong erythroid potential of multipotent cells. *Stem Cell Reports* 2019; 12:801–815.
 56. Maciejewski JP, Risitano A. Hematopoietic stem cells in aplastic anemia. *Arch Med Res* 2003; 34:520–527.
 57. Notta F, Zandi S, Takayama N et al. Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science* 2016; 351(6269):aab2116.
 58. Carrelha J, Meng Y, Kettyl LM et al. Hierarchically related lineage-restricted fates of multipotent haematopoietic stem cells. *Nature* 2018; 554:106–111.
 59. Sanjuan-Pla A, Macaulay IC, Jensen CT et al. Platelet-biased stem cells reside at the apex of the haematopoietic stem-cell hierarchy. *Nature* 2013; 502:232–236.
 60. Rodriguez-Fraticelli AE, Wolock SL, Weinreb CS et al. Clonal analysis of lineage fate in native haematopoiesis. *Nature* 2018; 553:212–216.
 61. Pinho S, Marchand T, Yang E et al. Lineage-biased hematopoietic stem cells are regulated by distinct niches. *Dev Cell* 2018; 44:634–641.e4.
 62. Signer RAJ, Magee JA, Salic A, Morrison SJ. Haematopoietic stem cells require a highly regulated protein synthesis rate. *Nature* 2014; 508:49–54.
 63. Boettcher S, Manz MG. Regulation of inflammation- and infection-driven hematopoiesis. *Trends Immunol* 2017; 38:345–357.
 64. Haas S, Hansson J, Klimmeck D et al. Inflammation-induced emergency megakaryopoiesis driven by hematopoietic stem cell-like megakaryocyte progenitors. *Cell Stem Cell* 2015; 17:422–434.
 65. Zhang Y, Gao S, Xia J, Liu F. Hematopoietic hierarchy — an updated roadmap. *Trends Cell Biol* 2018; 28:976–986.

66. Chertkov JL, Drize NJ, Gurevitch OA, Samoylova RS. Origin of hemopoietic stromal progenitor cells in chimeras. *Exp Hematol* 1985; 13:1217—1222.
67. Abbuehl JP, Tatarova Z, Held W, Huelsken J. Long-term engraftment of primary bone marrow stromal cells repairs niche damage and improves hematopoietic stem cell transplantation. *Cell Stem Cell* 2017; 21:241—255.e6.
68. Zhao M, Tao F, Venkatraman A et al. N-cadherin-expressing bone and marrow stromal progenitor cells maintain reserve hematopoietic stem cells. *Cell Rep* 2019; 26:652—669.e6.
69. Itkin T, Gur-Cohen S, Spencer JA et al. Distinct bone marrow blood vessels differentially regulate haematopoiesis. *Nature* 2016; 532:323—328.
70. Ludin A, Gur-Cohen S, Golan K et al. Reactive oxygen species regulate hematopoietic stem cell self-renewal, migration and development, as well as their bone marrow microenvironment. *Antioxid Redox Signal* 2014; 21:1605—1619.
71. Golan K, Kumari A, Kollet O et al. Daily onset of light and darkness differentially controls hematopoietic stem cell differentiation and maintenance. *Cell Stem Cell* 2018; 23:572—585.e7.
72. Song Y, Zhao HY, Lyu ZS et al. Dysfunctional bone marrow mesenchymal stem cells in patients with poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24:1981—1989.
73. Kong Y, Song Y, Hu Y et al. Increased reactive oxygen species and exhaustion of quiescent CD34-positive bone marrow cells may contribute to poor graft function after allotransplants. *Oncotarget* 2016; 7:30892—30906.
74. Kong Y, Wang YT, Hu Y et al. The bone marrow microenvironment is similarly impaired in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients with early and late poor graft function. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51:249—255.
75. Golan K, Singh AK, Kollet O et al. Bone marrow regeneration requires mitochondrial transfer from donor Cx43-expressing hematopoietic progenitors to stroma. *Blood* 2020; 136:2607—2619.
76. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM et al. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *NPJ Regen Med* 2019; 4:22.
77. Snyder F. Fatty acid oxidation in irradiated bone marrow cells. *Nature* 1965; 206:733.
78. Bethel M, Chitteti BR, Srour EF, Kacena MA. The changing balance between osteoblastogenesis and adipogenesis in aging and its impact on hematopoiesis. *Curr Osteoporosis Rep* 2013; 11:99—106.
79. Naveiras O, Nardi V, Wenzel PL et al. Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature* 2009; 460:259—263.
80. Bianco P. “Mesenchymal” stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2014; 30:677—704.
81. Muruganandan S, Ionescu AM, Sinal CJ. At the crossroads of the adipocyte and osteoclast differentiation programs: Future therapeutic perspectives. *Int J Mol Sci* 2020; 21(7):2277.

Глава 2.

Главный комплекс гистосовместимости: история открытия, эволюция, строение, значение при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

История открытия

Человеческий лейкоцитарный антиген, или HLA (human leukocyte antigen), — это семейство генов человека, известное как главный комплекс гистосовместимости или МНС (major histocompatibility complex). МНС встречается у всех челюстных позвоночных животных, к которым относятся все животные, начиная с акул. Самыми изученными МНС животных являются крысиный, куриный, свиной, собачий (DLA) и кошачий (FLA).

Первые описания МНС были сделаны британским иммунологом Питером Горером в 1936 г. На основе своих наблюдений за агглютинацией эритроцитов мышей иммунными сыворотками кроликов он описал главный комплекс гистосовместимости этих животных [1]. Эти исследования были продолжены Джорджем Снеллом, который установил, что отторжение трансплантата у мышей связано с несовместимостью на уровне определенных антигенов. Мышиный МНС был назван “H2” в честь антигена H, открытого Горером [2]. В 1944 г. Питер Медавар, изучая трансплантацию кожи у кроликов, продемонстрировал, что отторжение гомотрансплантата (теперь называемого аллотрансплантатом) является результатом специфического и системного иммунного ответа [3].

История исследования HLA началась в 1952 г. с наблюдения, сделанного Жаном Доссе. Он предположил, что у человека на поверхности лейкоцитов может существовать антигенная система, сходная с той, которая наблюдается на эритроцитах мыши, что он и продемонстрировал, показав массивную лейкоагглютинацию сывороткой пациента, который перенес многократные переливания крови. Однако окончательное подтверждение было получено лишь в 1958 г. по результатам теста лейкоагглютинации, примененного на лейкоцитах у группы людей. Жан Доссе назвал его “MAC” по первым буквам имен 3 его добровольцев. Позднее он был идентифицирован как HLA-A2 [4]. HLA как полиморфная система антигенов была подтверждена работами Йона ван Руда, Роуз Пейн и Уолтера Бодмера, которые определили соответственно антигены 4a и 4b (Bw4 и Bw6), а также HLA-A2 и HLA-A3 в ходе исследований у женщин с несколькими беременностями в анамнезе [5, 6]. Это послужило толчком к созданию моно- и олигоспецифических антител к HLA для определения HLA-антигенов у человека. В 1960-х годах исследования, проведенные Барухом Банасеррафом [7] и Хью Макдевиттом [8], доказали связь генов MHC со специфическими иммунными реакциями, в связи с чем они были названы генами иммунного ответа (Ir genes).

Достижения в области гистосовместимости были ознаменованы присуждением в 1960 г. Питеру Медавара и Франку Бёрнету Нобелевской премии за новаторские исследования в области иммунологической толерантности и трансплантации тканей. Они разделили премию «за открытие приобретенной иммунологической толерантности».

В 1964 г. Бернардом Амосом в университете Дьюка был организован первый международный семинар (workshop) по гистосовместимости, где участники сравнивали различные методы обнаружения антигенов лейкоцитов человека. Это положило начало продуктивной международной совместной деятельности по изучению системы HLA. Международные исследования с проведением международных семинаров по гистосовместимости (IHW) привели к определению кластера генов на 6-й хромосоме, включая HLA-A, HLA-B и HLA-C. В том же генетическом регионе была картирована система комплемента. В 1970-х годах аллели HLA класса II были охарактеризованы посредством проведения реакций смешанной культуры лимфоцитов (MLC). Достижения молекулярной биологии позволили исследовать систему HLA непосредственно на уровне генов, а не их продуктов.

В 1954 г. было положено начало трансплантациям аллогенных органов и тканей, когда была выполнена первая успешная операция по пересадке почки Джозефом Мюрреем в Бостоне, штат Массачусетс. Улучшить результаты после трансплантации позволили полученные

наблюдения, свидетельствовавшие о том, что совместимость донора и реципиента по HLA позволяет повысить выживаемость реципиентов аллотрансплантатов [9].

Эти открытия в дальнейшем дали начало трансплантации аллогенного костного мозга. Первая была выполнена Э. Донналлом Томасом, о чем было сообщено в журнале *New England Journal of Medicine* 12 сентября 1957 г. [10]. В этом исследовании шесть пациентов прошли курс лучевой и химиотерапии, а затем получили внутривенную инфузию костного мозга от здорового донора. Приживление произошло только у двух пациентов, и все они умерли через 100 дней после трансплантации. В то время мало что было известно об антигенах гистосовместимости, и никто не пытался подбирать по ним доноров и реципиентов. Многие предпринимали попытки выполнения трансплантации костного мозга, однако, получая неудовлетворительные результаты, бросали попытки, но Томасом работа была продолжена. В середине-конце 1960-х годов были разработаны методы определения и типирования антигенов лейкоцитов человека (HLA), что позволило подобрать донора и реципиента по HLA. В 1969 г. Томас инициировал в Сиэтле программу клинических исследований в области трансплантации костного мозга. В 1977 г. группа из Сиэтла сообщила о 100 трансплантациях с применением химио- и лучевой терапии у 54 пациентов с острым миелоидным лейкозом и у 46 пациентов с острым лимфобластным лейкозом. Только 13 пациентов пережили год без возврата основного заболевания [11]. Однако такой небольшой процент излечения только подтолкнул Томаса к попыткам применить трансплантацию костного мозга на более ранних этапах лечения острого лейкоза, и в 1979 г. он сообщил о уже 50% излечении пациентов с ОМЛ, трансплантированных в первой ремиссии [12]. И возможно, самое важное, что было обнаружено в указанной работе, — это способность иммунной системы уничтожать опухоль, так называемая реакция «трансплантат против лейкоза». В 1990 г. Э. Донналл Томас совместно с Д. Мюрреем получили Нобелевскую премию за свои открытия в области трансплантации клеток для лечения заболеваний человека.

Еще один прорыв произошел после первой трансплантации от HLA-совместимого неродственного донора [13]. Трансплантация костного мозга от неродственного донора резко увеличила шансы на нахождение донора, совпадающего по HLA; например, для европейских пациентов эти шансы возросли с 25% до 75%. Международное сотрудничество было обязательным для создания центров трансплантации по всему миру и глобального регистра доноров. В 1972 г. был создан Международный регистр трансплантации костного мозга (IBMTR) для документирования данных о результатах трансплантации. К тому вре-

мени трансплантации проводились в 12 центрах, выполнявших в общей сложности около 50 процедур в год. В 1974 г. была создана Европейская группа по трансплантации крови и костного мозга (ЕВМТ) для европейского сотрудничества. Первая трансплантация от неродственного донора привела к созданию в 1986 г. Национальной программы донорства костного мозга (NMDP), а в 1988 г. была основана Всемирная ассоциация доноров костного мозга (Bone Marrow Donors Worldwide, BMDW). Эта организация объединяет более 23 миллионов доноров, зарегистрированных в 73 странах, и 600 000 единиц пуповинной крови из банков пуповинной крови в 32 странах.

Аналоги системы главного комплекса гистосовместимости у растений и беспозвоночных

Принято считать, что семейство мультигенов МНС ограничено позвоночными животными, однако локусы гистосовместимости встречаются и у беспозвоночных. Предполагается, что система иммунного распознавания по гистосовместимости возникла у многоклеточных беспозвоночных, вероятно, начиная с кишечнополостных (кораллов) [14]. Наиболее изученной системой «совместимости» беспозвоночных является система колониальных туникат [15, 16]. Колониальные туникаты — это сложные морские беспозвоночные, протохордаты. Наиболее известным видом в этой группе является *Botryllus schlosseri*, а его система совместимости называется fusion/histocompatibility (Fu/HC). Аллогенное распознавание у *Botryllus schlosseri* в основном контролируется единственным локусом с большим количеством кодоминантно выраженных аллелей [17]. Число аллелей оценивается от 30 до 200.

Колониальные туникаты в ходе внутривидовой конкуренции за кормовые поверхности массово осуществляют реакции аллогенного распознавания. С помощью этих реакций колонии объединяются с родственниками, расширяют господство над кормовой поверхностью, изолируя при этом неродственных особей. Колония *Botryllus schlosseri* состоит из множества единиц, которые встроены в полупрозрачно-желатиновую матрицу — тунику. Каждый гермафродитный член колонии обладает мужскими и женскими гонадами. После слияния с неидентичными родственниками, разделяющими один или несколько аллелей Fu/HC, слившаяся пара размножается посредством бесполого процесса почкования, еще больше увеличивая доминирование на поверхности питания. Однако в какой-то более поздний момент времени между слившимися родственниками происходят множественные реакции аллогенного распознавания, что приводит к уничтожению всех особей одного из генотипов и прекращению текущего химерного состояния [16].

Помимо предотвращения слияния с неродственными организмами [15, 18] Fu/НС также влияет на самооплодотворение путем развития несовместимости между мужскими и женскими половыми клетками. Женские половые клетки сопротивляются оплодотворению мужскими половыми клетками из той колонии, которая представлена тем же аллелем Fu/НС. Это взаимодействие приводит к избирательному оплодотворению мужскими половыми клетками, несущими другой аллель Fu/НС [15]. Это явление у гермафродитных беспозвоночных очень похоже на то, что происходит у грибов и растений.

Пока нет доказательств общего предка для систем совместимости беспозвоночных и МНС позвоночных [16]. Это показывает, что широкое распространение этих систем связано не с общим предком, а предполагает биологическую потребность в наличии такой системы. В пользу такого предположения говорят данные о том, что у беспозвоночных система «самонесовместимости» возникала независимо более одного раза. Представляется, что основной функцией всех этих систем является обеспечение гетерозиготности на самой ранней стадии полового размножения. Однако все еще существует возможность того, что гены гистосовместимости позвоночных произошли от гаметических систем само- и несамораспознавания, которые предотвращают самооплодотворение у гермафродитных организмов [15].

У растений также есть механизмы распознавания собственных и чужеродных антигенов. Они предотвращают самоопыление через самонесовместимость и имеют решающее значение для поддержания генетического разнообразия в популяциях цветковых растений (ангиоспермов). Необходимость в этих механизмах связана с тем, что у цветковых растений мужские и женские органы часто находятся в непосредственной близости друг от друга на одном растении, а нередко и на одном цветке. Самонесовместимость — это генетически контролируемый механизм отторжения собственной пыльцы [19, 20]. Некоторые цветы разработали механические барьеры для своей собственной пыльцы, чтобы предотвратить ее попадание на женский орган (пестик) в том же цветке или растении. Другие имеют временные различия между мужскими и женскими цветками. Системы самонесовместимости, создающие топологический барьер (из-за разной морфологии их цветков), называются гетероморфными системами самонесовместимости [20]. Более половины цветковых растений имеют цветки сходной формы и гомоморфный тип самонесовместимости. Гомоморфный тип далее классифицируется на гаметофитный и спорофитный типы. В первом случае в пыльцевом зерне и ткани пестика активны одни и те же факторы (гены), контролирующие синтез распознающих друг друга субстанций, и результирующее опыление возможно, если аллели не-

совместимости в пыльцевой трубке и ткани пестика различны. Лocus несовместимости был обозначен буквой S (self-incompatibility), а его аллели — буквой S с индексами: S1, S2, S3 и т. д.

В более интересном спорофитном типе два аллеля родителя пыльцы распознаются рыльцем, и во избежание самоотторжения не должно быть совпадения комбинации между двумя аллелями рыльца и двумя аллелями растения, от которого произошла пыльца. Эти два типа не являются родственными и развивались независимо друг от друга.

Самонесовместимые растения обязательно производят потомство, гетерозиготное по локусу S, который в целом содержит 30—50 аллелей [21]. Аллели локуса S придают генетическую идентичность (специфичность гаплотипа S) пыльце и рыльцу растений, обладающих системой самонесовместимости. Лocus S спорофитного типа имеет два гена, кодирующих два белка, экспрессирующихся на поверхности рыльца пестика. Это трансмембранная протеинкиназа рецептора S (SRK) и гликопротеин локуса S (SLG), обладающий активностью РНКазы [22]. Именно продукт гена SRK определяет специфичность S-гаплотипа рыльца, но самоотторжение будет сильнее, если SLG того же гаплотипа также экспрессируется. Когда пыльца достигает рыльца того же цветка или растения, происходит реакция самоотторжения. Биохимический механизм самоотторжения включает цитотоксическое действие активности РНКазы. Конечным результатом является предотвращение роста пыльцевой трубки. В гаметофитном типе то же самое достигается с помощью одного гликопротеина с РНКазной активностью [23].

Система самонесовместимости растений служит примером уравновешивающего отбора в поддержании разнообразия их аллелей. Любой новый аллель будет иметь селективное преимущество, поскольку пыльца с этим аллелем всегда будет приниматься рыльцем, пока этот аллель не достигнет заметной частоты в популяции (частотнозависимый отбор).

Эволюция системы главного комплекса гистосовместимости позвоночных

Иммунная система позвоночных делится на 2 подсистемы — врожденную иммунную систему и адаптивную иммунную систему. Врожденная иммунная система первой реагирует на начальную инфекцию, и болезнь и не сохраняет память о предыдущих реакциях. Компонентами врожденной иммунной системы являются физические барьеры, такие как кожа и слизистые, клеточные процессы, такие как фагоцитоз, и гуморальные факторы, такие как растворимые белки. Если патоген сохраняется, несмотря на врожденную иммунную защиту, привлекает-

ся адаптивная иммунная система. Адаптивная иммунная система высокоспецифична к определенному антигену и может обеспечить длительный иммунитет [24]. Предполагается, что врожденная иммунная система возникла больше 600 млн лет назад, в то время как специфические компоненты адаптивной иммунной системы, включая иммуноглобулины (Ig), рецепторы Т-клеток (TCR) и МНС, возникли приблизительно 450 млн лет назад у первых челюстных позвоночных (то есть Gnathostomata) [25].

В то время как бесчелюстные рыбы имеют адаптивную иммунную систему, основанную на вариабельных рецепторах лимфоцитов (VLRs), В-подобных и Т-подобных клетках, челюстноротые, являясь предками млекопитающих, имеют адаптивную иммунную систему, включающую иммуноглобулины, Т-клеточные рецепторы и МНС [25, 26].

Хотя структура МНС является схожей у разных видов, гены, кодирующие МНС, демонстрируют высокую степень полиморфизма у млекопитающих, костных и хрящевых рыб, что позволяет представлять различные репертуары пептидов [27]. У большинства костистых рыб МНС класса I и II находятся на разных хромосомах, а у хрящевых рыб и всех других позвоночных МНС I и II находятся на одной хромосоме [28]. Интересно, что если МНС I и II сохранились у большинства челюстных позвоночных, то у трескообразных рыб утрачены гены МНС II и CD4, корецептора Т-клеток, который взаимодействует с МНС. Однако атлантическая треска содержит больше генов, связанных с компонентом иммунной системы МНС I, а также уникальный состав семейства Toll-подобных рецепторов (TLR) по сравнению с другими позвоночными, что может помочь компенсировать отсутствие МНС II и CD4 [29].

Старейшим из ныне живущих видов животных, имеющим предковую систему распознавания МНС/Т-клеточных рецепторов, является акула, относящаяся к хрящевым рыбам [30]. Акула и человек находятся на противоположных концах эволюционного спектра челюстных позвоночных. Акула эволюционировала в течение 450—520 млн лет, а современному человеку, вероятно, 100 000—200 000 лет [31].

Важную роль в становлении адаптивного иммунитета играли транспозоны — участки ДНК организмов, способные к передвижению (транспозиции) и размножению в пределах генома. Вставка транспозонов привела к эволюции репертуара генов иммуноглобулинов, Т-клеточных рецепторов посредством транспозиций, опосредованных ферментами-рекомбиназами RAG1 и RAG2, а также к созданию разнообразия в геномном регионе МНС [32].

Гипотеза в отношении «челюстных позвоночных» предполагает, что адаптивная иммунная система распознавания и более специализиро-

ванные врожденные системы (НК-клетки, факторы комплемента V_f и C₂) развивались в желудочно-кишечном тракте примитивных челюстных позвоночных для защиты от патогенов, занесенных хищным образом жизни [33]. Поэтому именно в этом контексте акула является важной сохранившейся моделью для изучения геномной структуры и генной организации МНС. Акула имеет прототипный МНС, если предположить, что за 520 млн лет эволюции в этом регионе произошло мало изменений в результате геномных перестроек (делеций, транспозиций, инсерций). Предыдущие исследования МНС акулы показали, что кластеры генов класса I и класса II тесно связаны между собой [34]. Если акула является прототипическим челюстным позвоночным с самой длинной сохранившейся родословной, то прототипическая структура МНС, вероятно, представляет собой базовый комплекс генов, состоящий только из генов класса I и класса II, TAP1/TAP2 и LMP2/LMP7 [30]. Эта прототипическая структура в той или иной форме была обнаружена у большинства изученных позвоночных, даже несмотря на различные геномные перестройки, включая расширение, сужение, перемещение, потерю и новые вставки генов на протяжении эволюционного пути от акулы до человека [30]. В этом отношении разделение регионов класса I и класса II у костных рыб является производным, а не предковым [35]. Потеря сцепления генов класса II и класса I произошла, вероятно, в результате транслокации генов класса II в другие геномные регионы и разные хромосомы. С другой стороны, гены I класса у костистых рыб перемешаны с генами *LMP2*, *LMP7*, *TAP2* и *RING3* и с генами из «расширенного» региона II класса, такими как *KNSL2*, *DAXX*, *ZNF297*, *TAPBP*, *RXRБ* и *COL11A2* [36].

Появление отдельных методик электрофореза в 1960-х годах привело к росту числа исследований, в которых изучалось генетическое разнообразие в широком таксономическом спектре. Все это привело к тому, что разгорелась дискуссия о нейтрализме и селекции, которая продолжается до сих пор [37]. В последнее время растущий объем информации о последовательности ДНК облегчил попытки определить влияние отбора на различные участки генов и оценить распределение селективных эффектов по геному [38]. Такие данные, однако, не всегда помогают прояснить, какие процессы лежат в основе отбора, поскольку информация о последовательности ДНК не может помочь определить функцию гена.

Наше понимание того, как отбор может действовать для поддержания адаптивного полиморфизма в природных популяциях, по-прежнему основано на исследованиях небольшого количества ключевых областей генов, включая МНС. МНС охарактеризован на молекулярном уровне в течение значительного числа лет, и исследования, описываю-

щие разнообразие МНС, обширны. МНС остается мощной моделью, на которой можно проверить конкурирующие гипотезы о причинах и последствиях отбора. МНС занимает центральное место в иммунной системе позвоночных. Это семейство мультигенов, кодирующее ключевые рецепторные молекулы, которые распознают и связывают чужеродные пептиды для презентации специализированным иммунным клеткам и последующего запуска иммунного ответа [39]. С эволюционной точки зрения, важнейшей особенностью МНС является чрезвычайное разнообразие, наблюдаемое в экспрессируемых локусах. МНС содержит наиболее вариабельные функциональные гены, описанные у позвоночных.

В трех наиболее изменчивых локусах МНС человека — HLA-A, HLA-B и HLA-DRB1 — исследовано 7644, 9097, 2221 аллелей соответственно на октябрь 2022 г. [40], а нуклеотидное разнообразие в МНС человека на два порядка выше, чем в среднем по геному [41]. По мере изучения генов МНС у все большего числа видов в широком таксономическом диапазоне становится очевидным, что такое высокое разнообразие является характерной особенностью локусов МНС.

Необходимость поддержания высокого аллельного разнообразия в локусах МНС может показаться интуитивно очевидной, учитывая, что особи или популяции с более высокой вариабельностью последовательностей в локусах МНС могут идентифицировать и обрабатывать большее количество патогенных антигенов и, таким образом, бороться с более широким их спектром. Однако мы все еще далеки от правильного понимания того, какие эволюционные, экологические и этологические процессы порождают и, что более важно, поддерживают разнообразие МНС в природных популяциях [42].

Строение системы главного комплекса гистосовместимости человека

Ген МНС человека разделен на три области. Каждая область содержит множество локусов генов, включая экспрессируемые гены и псевдогены [43].

Существует не менее 18 локусов генов HLA класса I: три классических (HLA-A, HLA-B и HLA-C), три неклассических (HLA-E, HLA-F и HLA-G) и 12 некодирующих, или псевдогенных (HLA-S/17, HLA-X, HLA-N/30, HLA-L/92, HLA-J/59, HLA-80, HLA-21, HLA-K/70, HLA-16, HLA-H/54, HLA-90 и HLA-75), сгруппированных в пределах трех отдельных блоков дупликации, обозначенных как α -, β - и κ -блоки [44].

Есть также семь генов MHC, которые являются HLA-I-подобными генами. Они распределены по трем блокам дупликации, два экспрессируются в бета-блоке, тогда как остальные являются неэкспрессируемыми, или псевдогенами, в пределах каппа- и альфа-блоков [45]. Эти блоки дупликации выявлены у большинства изученных видов млекопитающих (за исключением свиней), и они отделены друг от друга большим набором не-HLA генов (97 локусов у человека) с разнообразными функциями [31].

Антигены класса I экспрессируются практически на всех клетках организма, кроме эритроцитов и трофобластов. Антигены класса I состоят из тяжелой цепи (α -цепи), которая нековалентно соединяется с легкой цепью (β -цепью) с образованием конечной димеризованной молекулы. Альфа-цепи класса I кодируются генами в MHC (например, HLA-A, HLA-B), тогда как β -цепь (β 2-микроглобулин) кодируется на 15-й хромосоме, а не в MHC.

Область класса III, расположенная между классом I и классом II областей, содержит 62 локуса 58 экспрессированных генов и двух псевдогенов. Это область с высокой плотностью генов. Область класса III содержит гены факторов комплемента C2, C4 и Bf, гены цитокинов фактора некроза опухоли, лимфотоксина-альфа и лимфотоксина-бета и многие гены без очевидной связи с иммунной функцией или воспалением [46].

Область класса II содержит классические гены α - и β -цепей класса II HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR, которые экспрессируются на поверхности антигенпрезентирующих клеток (например, дендритных клеток, макрофагов или В-клеток) для представления пептидов Т-хелперным клеткам. 34 локуса идентифицировано в области класса II от HLA-DRA до HLA-DPA3 с 16 экспрессированными генами, тремя генами-кандидатами и 15 псевдогенами. Девятнадцать локусов представляют собой HLA-II-подобные последовательности, включающие 15 классических локусов HLA класса II и четыре неклассических локуса HLA класса II (HLA-DM и HLA-DO). Локусы HLA-DRB варьируют по количеству и зависят от MHC-гаплотипа [46].

Презентация антигена в молекуле HLA

Именно через систему HLA происходит презентация чужеродного антигена Т-клеткам с участием антигенпрезентирующих клеток для последующей реализации противоопухолевого и противоинфекционного иммунного ответа [47, 48]. Т-клетки могут развиваться в клетки памяти или эффекторных клетки. Два основных типа эффекторных Т-клеток, составляющих адаптивную иммунную систему, — это Т-хелперы

(Th) и цитотоксические Т-клетки (ТС). Помимо этого выделяют также Т-регуляторные клетки, которые регулируют иммунный ответ, предотвращая аутоиммунные реакции, однако способствуя выживанию опухолевых клеток [49].

Th-клетки отличаются экспрессией CD4, специфической для данного подмножества экспрессией транскрипционных факторов (T-bet, GATA3 и ROR γ t) и выделением цитокинов, которые влияют на активацию и дифференцировку других иммунных клеток. Существует 5 основных разновидностей Th-клеток (Th1, Th2 и Th17, Th22, Tfh), каждая из которых специализируется на защите от определенных инфекций. Клетки Th1 в первую очередь выделяют интерферон гамма, который связан с защитой от внутриклеточных микробов (преимущественно вирусов) и началом анти- или проопухолевых эффектов, клетки Th2 борются с паразитарными инфекциями путем секреции специфических белков интерлейкинов (ИЛ), включая ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13, а клетки Th17 борются с микробными патогенами путем секреции цитокинов, таких как ИЛ-17А, ИЛ-17F и ИЛ-22 [50, 51]. Th22 осуществляют защиту против внеклеточных бактерий путем секреции ИЛ-22, локализуясь в коже и толстой кишке, а Т-фолликулярные хелперы (Tfh) формируют зародышевые центры в фолликулах периферических лимфоидных органов и стимулируют события, которые происходят в этих образованиях: переключение изотипов иммуноглобулинов, созревание аффинитета антител, образование В-клеток памяти и долгоживущих плазмочитов [51]. Цитотоксические Т-клетки характеризуются экспрессией CD8 и способностью непосредственно контактировать и убивать трансформированные и инфицированные клетки. Т-клетки действуют совместно с В-клетками, результатом чего является формирование иммунологической памяти в отношении отдельных патогенов, включая раковые клетки. Для полного развития адаптивного иммунного ответа против конкретного антигена может потребоваться несколько дней, однако его реализация при повторном попадании этого антигена является крайне быстрой.

Классическими антигенпрезентирующими клетками (АПК) являются дендритные клетки (DC) и В-клетки. Чтобы вызвать иммунный ответ, АПК должны сначала распознать и связать свою мишень. Для этого АПК экспрессируют антигенспецифические поверхностные рецепторы, включая рецепторы распознавания образов (pattern recognition receptor, PRR). PRR распознают молекулы, связанные с патогеном (pathogen-associated molecular pattern, PAMP), которые продуцируются микробами, и молекулы, связанные с повреждением (damage-associated molecular pattern, DAMP), которые продуцируются поврежденными или мутировавшими клетками хозяина [52]. В зависимости от

рецептора, экспрессия PRR может быть конститутивной или индуцибельной. К PRR относятся Toll-подобные рецепторы (TLR). TLR обычно экспрессируются на поверхности клеток или в эндосомах и представляют собой трансмембранные белки I типа, внеклеточные домены которых содержат богатые лейцином повторы, используемые для распознавания и связывания со специфическими PAMPs. Как только внеклеточный домен связывает свою мишень, TLR активирует цитозольный сигнальный каскад, который запускается адаптерным белком, взаимодействующим с внутриклеточным доменом TLR.

Другая группа PRR — это NOD-подобные рецепторы (NLR) (NOD — нуклеотидсвязывающие олигомеризационные домены). NLR присутствуют в цитоплазме и, как и TLR, инициируют сигнальные каскады при связывании с микробными PAMP [53, 54].

После связывания с соответствующим PAMP или DAMP АПК инициируют фагоцитоз мишени, пиноцитоз или клатрин-опосредованный эндоцитоз. Путь, по которому молекулы эндоцитируются, определяет, как они будут деградировать и затем отображаться МНС для распознавания Т-клетками [47, 48]. Рецепторы МНС I класса имеют все ядросодержащие клетки и служат для презентации эндогенных антигенов для активации CD8+ Т-клеток.

МНС II класса имеют только АПК, они служат для презентации экзогенных антигенов и активации CD4+ Th. Некоторые АПК, включая дендритные клетки, могут также представлять экзогенные антигены рецептору МНС I класса для активации CD8+ Т-клеток в процессе, называемом перекрестной презентацией. Представление антигенов рецепторами МНС I или МНС II также зависит от состава антигена (корпускулярные или растворимые антигены), способа эндоцитоза и деградации лизосомальными протеазами [48]. Цитотоксические Т-лимфоциты и Th используют мембраносвязанные Т-клеточные рецепторы (TCR) для связывания рецепторов МНС [55]. TCR состоят из двух полипептидных цепей (α - и β -), соединенных между собой дисульфидными связями.

Система HLA, играя большую роль в осуществлении механизмов антимикробного и противоопухолевого иммунного ответа, может определять предрасположенность к развитию некоторых аутоиммунных и вирусных заболеваний. Так, было показано, что наиболее часто встречаемые HLA-гаплотипы ассоциированы с меньшей восприимчивостью ко многим инфекционным заболеваниям, в том числе к цитомегаловирусной, вследствие эволюционного преимущества [56]. Показано, что реципиенты аллогенной почки с HLA-B*44 более подвержены инфицированию цитомегаловирусом по сравнению с пациентами без этого аллеля; напротив, реципиенты почки с HLA-DRB1*01 были

более подвержены инфицированию цитомегаловирусом, чем пациенты без этого аллеля [57]. Известна связь HLA-B*27 с анкилозирующим спондилоартритом. Изучается связь HLA с развитием целиакии, болезни Шегрена, сахарного диабета 1-го типа, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, системной красной волчанки.

Влияние иммунопептидома на реакцию «трансплантат против лейкоза»

Открытие и определение функции HLA позволило устанавливать соответствие между донорами и реципиентами по вариантам генов HLA, а также идентифицировать пептидные антигены, которые могут быть представлены HLA-молекулами на поверхности клеток. В последние годы углубленный анализ иммунопептидома опухолей, включая опухоли системы крови, позволил выявить и охарактеризовать мишени для Т-клеточного ответа и позволил проложить путь к пониманию, оптимизации и разработке Т-клеточной терапии. Иммунопептид — это весь набор пептидов, которые могут быть связаны и представлены молекулами МНС Т-клеткам.

У людей, несущих разные аллели в локусах HLA (гетерозигот), продуцируются обе молекулы, тем самым количество потенциально презентируемых пептидомов увеличивается. Таким образом, гетерозиготы обладают «расширенным иммунитетом». Это преимущество означает, что при прочих равных условиях естественный отбор будет благоприятствовать гетерозиготности по локусам HLA. Кроме того, когда эволюционирующие патогены заражают гетерогенные по системе HLA популяции, они вынуждены заново адаптироваться при каждой передаче. Это затрудняет адаптацию этих патогенов к популяции хозяев в целом, а также способствует появлению у хозяев множества редких аллелей HLA [58]. Далее разнообразие по системе HLA «закрепляется» через репродуктивные механизмы. Данные исследований на животных и людях указывают на некоторую предвзятость при выборе партнера. Так, выбор происходит в пользу партнеров, несущих аллели HLA, которые редки и/или отличаются от собственных. Также имеются данные, что пары, более дискордантные по аллелям HLA, более плодовиты [59]. Такие поведенческие и репродуктивные феномены увеличивают HLA-разнообразие потомства и популяции в целом.

Эволюционная дивергенция HLA — количественная мера, отражающая расхождение аминокислотных последовательностей между молекулами HLA, которая в конечном итоге может отражать разнообразие иммунопептидомов.

Было показано, что высокая эволюционная дивергенция HLA (HED) между гомологичными аллелями HLA ассоциирована с более разнообразным иммунопептидомом. Это, в свою очередь, может напрямую определять способность представлять антигены, ассоциированные с опухолью, что является необходимым условием противоопухолевого иммунного ответа, включая такие эффекты, как реакция «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ) [60]. Расстояние Грентема позволяет количественно оценить эволюционную дивергенцию между аллелями HLA (HED) с учетом физико-химических различий соответствующих пептидных последовательностей связывающих доменов [61]. Расстояние Грентема между каждой парой аминокислот рассчитывается на основании формулы Грентема, в которой учитывается структура, полярность, молекулярный объем соответствующих аминокислот [62]:

$$d_{i,j} = \rho(\alpha(c_i - c_j)^2 + \beta(p_i - p_j)^2 + \gamma(v_i - v_j)^2)^{1/2},$$

где $d_{i,j}$ — расстояние Грентема между аминокислотами i и j ;

c — аминокислотный состав;

p — полярность аминокислот;

v — молекулярный объем аминокислот;

α, β, γ — константы;

ρ — константа, которой в настоящее время дополнена первоначальная формула Грентема.

Было показано, что пациенты с более высоким значением расстояния Грентема, а значит, с более разнообразным иммунопептидомом лучше отвечают на терапию ингибиторами контрольных точек [60]. Терапия ингибиторами контрольных точек может блокировать тормозные контрольные точки — CTLA4, PD-1 и PD-L1, восстанавливая нормальную функцию иммунной системы. Однако у разных людей эффективность противоопухолевого ответа иммунной системы может отличаться вследствие разного иммунопептидома. Имеются данные, что низкое значение расстояния Грентема ассоциировано с худшими показателями общей выживаемости у пациентов с ОМЛ после алло-ТГСК от полностью совместимого донора [61], что, вероятно, связано с менее разнообразным иммунопептидомом HLA-молекул.

Именно различия в иммунопептидомах лежат в основе допустимых и недопустимых различий в HLA-DPB1.

В отличие от HLA-совместимых родственных доноров, где минорные антигены гистосовместимости почти исключительно представляют собой мишени аллореактивности Т-клеток, большинство HLA-совместимых неродственных доноров дополнительно имеют несовпадения по антигенам HLA-DP, вызывая прямые аллореактивные Т-кле-

точные ответы с последующим влиянием на развитие реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и РТПЛ. Все больше данных свидетельствует о том, что различия между донорами и реципиентами по HLA-DPB1 могут иметь клиническое значение [63]. Сообщалось, что несоответствие HLA-DPB1 вызывает широкий спектр аллореактивных Т-клеточных ответов, связанных не только с повышенным риском острой РТПХ, но и с пониженным риском рецидива лейкоза в результате РТПЛ [64]. Поскольку несовпадение HLA-DPB1 наблюдается в > 80% пар с неродственным донором, определение допустимых несовпадений HLA-DPB1, то есть комбинаций HLA-DPB1, вызывающих ограниченную аллореактивность Т-клеток с пониженным риском РТПХ, но сохраняющих клиническую эффективность РТПЛ, представляет собой важную проблему для повышения результатов алло-ТГСК от HLA-совместимых неродственных доноров. Дифференциация на допустимые и недопустимые была достигнута путем функционального подбора групп Т-клеточных эпитопов, демонстрирующих перекрестное распознавание между различными аллелями HLA-DPB1 [65]. В работе 2012 г. было показано, что допустимое несовпадение HLA-DPB1 ассоциируется с более низким риском смертности и рецидива после алло-ТГСК [66]. В другом исследовании наличие несовпадения антигенов HLA-DRB1 в направлении РТПХ было связано со снижением риска рецидива и улучшением выживаемости [92]. В НМИЦ гематологии также был проведен анализ влияния несовместимости по гену HLA-DPB1 на результаты алло-ТГСК от HLA-A-B-C-DRB1-DQB1-совместимых неродственных доноров. Невпадение донора и больного по DPB1-аллелям не оказывало статистически значимого влияния на общую выживаемость, бессобытийную выживаемость и повышение вероятности развития острой РТПХ после алло-ТГСК; однако у больных с алло-ТГСК от донора с недопустимым несовпадением по DPB1-аллелям наблюдалась тенденция к улучшению бессобытийной выживаемости [67]. Таким образом, влияние несовпадения эпитопов Т-клеток донора и реципиента на результаты алло-ТГСК требует дальнейшего изучения.

Результаты несовместимых по системе HLA трансплантаций аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Исторически сложилось так, что наилучшие результаты алло-ТГСК были получены, когда донором стволовых клеток были брат или сестра, совместимые с реципиентом по HLA. Учитывая небольшие разме-

ры семей в развитых странах и только 25-процентную вероятность того, что родной брат или сестра полностью HLA-совместимы с пациентом, HLA-совместимый сиблинг-донор имеется лишь у 30% больных. Для пациентов, у которых нет HLA-совместимого брата или сестры, альтернативные источники ГСК включают стволовые клетки, полученные от HLA-совместимого или частично совместимого неродственного донора или HLA-гаплоидентичных родственных доноров. За последнее десятилетие произошло значительное улучшение результатов гаплоидентичных трансплантаций. Решение о том, какого донора выбрать, в значительной степени зависит от клинической ситуации и подходов, применяемых в конкретном трансплантационном центре.

Основной проблемой алло-ТГСК от гаплоидентичного донора является интенсивная двунаправленная аллореактивность, приводящая или к высокой частоте развития несостоятельности трансплантата, или РТПХ. Однако достижения в области профилактики РТПХ позволили существенно уменьшить риски развития этих посттрансплантационных осложнений.

Потенциальными HLA-гаплоидентичными донорами являются биологические родители, биологические дети, полнородные или неполнородные братья и сестры и даже доноры из дальних родственников, такие как тети, дяди, племянники, племянницы, двоюродные братья и сестры или внуки.

Для пациентов с острыми лейкозами из группы высокого риска эффективность алло-ТГСК от гаплоидентичного донора может быть связана с более выраженным эффектом РТПЛ по сравнению с трансплантацией от HLA-совместимого донора, что приводит к снижению кумулятивной частоты рецидивов и улучшению общей выживаемости [68]. Однако первый опыт алло-ТГСК от гаплоидентичного донора был связан с нивелированием этого преимущества большим числом РТПХ и высокой трансплантационной летальностью. Впоследствии ряд достижений в области инженерии трансплантата и фармакологического модулирования аллореактивности позволили снизить частоту РТПХ и смертность, не связанную с рецидивом, улучшить общую и безрецидивную выживаемость и сделать этот вид донорства приемлемой альтернативой для пациентов, не имеющих HLA-совместимого донора. Выделяют 3 наиболее распространенных подхода к профилактике РТПХ при алло-ТГСК от гаплоидентичного донора: 1) посттрансплантационный циклофосфамид (ПТ-ЦФ); 2) стратегия "GIAC", предполагающая стимуляцию донора с использованием гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, кондиционирование с использованием антиtimoцитарного глобулина, интенсивную посттрансплантационную иммуносупрессию; 3) истощение Т-клеток

с «мегадозой» клеток CD34+ либо отобранное истощение α/β Т-клеток и В-клеток.

Именно использование ПТ-ЦФ было связано с результатами, сравнимыми с результатами HLA-совместимой ТГСК [69]. Все это привело к быстрому распространению алло-ТГСК от гаплоидентичного донора. Например, среди центров Европейского общества ТКМ И ГСК использование гаплоидентичных доноров выросло на 291% с 2005 по 2015 г. [70].

В настоящее время посттрансплантационный циклофосамид широко применяется с целью преодоления иммунологической несовместимости пары донор—реципиент. Было показано, что его использование ведет к делеции не только аллореактивных Т-эффекторных клеток, но и Т-регуляторных клеток, приводя к преимущественному восстановлению Т-регуляторных клеток в посттрансплантационном периоде за счет клеток донорского генотипа [71].

При ТГСК от гаплоидентичного донора возможно применение миелоаблативного, немиелоаблативного кондиционирования и кондиционирования в режиме пониженной интенсивности. Различные режимы кондиционирования и схемы профилактики РТПХ могут оказывать разное влияние на последующее восстановление субпопуляций Т-клеток, тем самым определяя развитие РТПХ [72]. На развитие РТПХ может оказывать влияние и доля гранзим В+ Т-регуляторных клеток [73].

В развитии РТПХ при алло-ТГСК от гаплоидентичных сиблингов может иметь значение факт того, является ли общий для донора и реципиента гаплотип унаследованным от матери или отца. Внутриутробное воздействие на плод материнских клеток может вызвать иммунологическую гипореактивность к ненаследуемым материнским HLA-антигенам (non-inherited maternal antigens, NIMA). При прочих равных условиях несоответствие материнских, а не отцовских антигенов лучше переносится при алло-ТГСК от гаплоидентичного сиблинга [74]. Отбор на основе NIMA требует типирования HLA по крайней мере одного родителя, чтобы определить происхождение унаследованных и неунаследованных гаплотипов HLA.

До начала активного применения ПТ-ЦФ исследовалось влияние пола родителя на развитие РТПХ. У пациентов, получивших трансплантаты от гаплоидентичного родителя, пятилетняя бессобытийная выживаемость была значительно выше у тех, кто получил трансплантат от матери, а не от отца (51% против 11% соответственно). Защитный эффект материнского гаплоидентичного донора наблюдался как у мужчин, так и у женщин-реципиентов, что позволяет предположить, что воздействие на мать аллоантигенов ребенка, унаследованных от отца, могло повлиять на эти результаты [75].

Заключение

Система HLA является ведущим компонентом иммунной системы, а ее роль в иммунном распознавании чужеродных антигенов сложно переоценить. Однако важно знать, что сама эта система стала эволюционным ответом на агрессивность внешней биосистемы и именно особенности ее структуры и функциональность определяют ситуации, когда в одном организме сталкиваются две системы — «донорская» и «хозяйская».

Литература

1. Gorer PA. The genetic and antigenic basis of tumour transplantation. *J Pathol Bacteriol* 1937; 44(3):691—697. DOI: 10.1002/path.1700440313.
2. Snell GD. Some recollections of Peter Gorer and his work on this fiftieth anniversary of his discovery of H-2. *Immunogenet* 1986; 24(6):339—340. DOI: 10.1007/BF00377948.
3. Medawar PB. The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits: A report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *J Anat* 1944; 78(Pt 5):176—199.
4. Dausset PJ. Iso-leuco-anticorps. *Acta Haematol* 1958; 20:156—166. DOI: 10.1159/000205478.
5. Bodmer WF. Evolutionary significance of the HL-A system. *Nature* 1972; 237(5351):139—145. DOI: 10.1038/237139a0.
6. Payne R, Tripp M, Weigle J et al. A new leukocyte isoantigen system in man. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1964; 29:285—295. DOI: 10.1101/sqb.1964.029.01.031.
7. Levine BB, Ojeda A, Benacerraf B. Studies on artificial antigens. III. The genetic control of tile immune response to hapten-poly-L-lysine conjugates in guinea pigs. *J Exp Med* 1963; 118(6):953—957. DOI: 10.1084/jem.118.6.953.
8. McDevitt HO, Sela M. Genetic control of the antibody response. II. Further analysis of the specificity of determinant-specific control, and genetic analysis of the response to (H,G)-A-L in CBA and C57 mice. *J Exp Med* 1967; 126(5):969—978. DOI: 10.1084/jem.126.5.969.
9. Morris PJ, Kincaid-Smith P, Ting A et al. Prospective leukocyte typing in cadaver renal transplantation. *Lancet* 1968; 2(7572):803—805. DOI: 10.1016/s0140-6736(68)92458-6.
10. Thomas ED, Lochte HL, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med* 1957; 257(11):491—496. DOI: 10.1056/NEJM195709122571102.
11. Thomas E, Buckner C, Banaji M et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1977; 49(4):511—533. DOI: 10.1182/blood.V49.4.511.511.

12. Thomas ED, Buckner CD, Clift RA et al. Marrow transplantation for acute non-lymphoblastic leukemia in first remission. *N Engl J Med* 1979; 301(11):597—599. DOI: 10.1056/NEJM197909133011109.
13. Hansen JA, Clift RA, Thomas ED et al. Transplantation of marrow from an unrelated donor to a patient with acute leukemia. *N Engl J Med* 1980; 303(10): 565—567. DOI: 10.1056/NEJM198009043031007.
14. Hildemann WH, Johnson IS, Jokiel PL. Immunocompetence in the lowest metazoan phylum: transplantation immunity in sponges. *Science* 1979; 204(4391): 420—422. DOI: 10.1126/science.441730.
15. Scofield VL, Schlumpberger JM, West LA, Weissman IL. Protochordate allorecognition is controlled by a MHC-like gene system. *Nature* 1982; 295(5849): 499—502. DOI: 10.1038/295499a0.
16. Weissman IL, Saito Y, Rinkevich B. Allorecognition histocompatibility in a protochordate species: is the relationship to MHC somatic or structural? *Immunol Rev* 1990; 113(1):227—241. DOI: 10.1111/j.1600-065x.1990.tb00043.x.
17. De Tomaso AW, Saito Y, Ishizuka KJ et al. Mapping the genome of a model protochordate. I. A low resolution genetic map encompassing the fusion/histocompatibility (Fu/HC) locus of *Botryllus schlosseri*. *Genetics* 1998; 149(1):277. DOI: 10.1093/genetics/149.1.277.
18. Grosberg RK, Quinn JF. The genetic control and consequences of kin recognition by the larvae of a colonial marine invertebrate. *Nature* 1986; 322(6078): 456—459. DOI: 10.1038/322456a0/.
19. Haring V, Gray JE, McClure BA et al. Self-incompatibility: A self-recognition system in plants. *Science* 1990; 250(4983):937—941. DOI: 10.1126/science.2237440.
20. Kao TH, Mccubbin AG. How flowering plants discriminate between self and non-self pollen to prevent inbreeding. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93(22):12059—12065. DOI: 10.1073/pnas.93.22.12059.
21. Ebert PR, Anderson MA, Bernatzky R et al. Genetic polymorphism of self-incompatibility in flowering plants. *Cell* 1989; 56(2):255—262. DOI: 10.1016/0092-8674(89)90899-4.
22. Takasaki T, Hatakeyama K, Suzuki G et al. The S receptor kinase determines self-incompatibility in *Brassica stigma*. *Nature* 2000; 403(6772):913—916. DOI: 10.1038/35002628.
23. McClure BA, Haring V, Ebert PR et al. Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonucleases. *Nature* 1989; 342(6252):955—957. DOI: 10.1038/342955a0.
24. Riera Romo M, Pérez-Martínez D, Castillo Ferrer C. Innate immunity in vertebrates: an overview. *Immunology* 2016; 148(2):125. DOI: 10.1111/imm.12597.
25. Flajnik MF, Kasahara M. Origin and evolution of the adaptive immune system: genetic events and selective pressures. *Nat Rev Genet* 2010; 11(1):47—59. DOI: 10.1038/nrg2703.
26. Flajnik MF, Kasahara M. Origin and evolution of the adaptive immune system: genetic events and selective pressures. *Nat Rev Genet* 2010; 11(1):47—59. DOI: 10.1038/nrg2703.

27. Rock KL, Reits E, Neefjes J. Present Yourself! By MHC class I and MHC class II molecules. *Trends Immunol* 2016; 37(11):724. DOI: 10.1016/j.it.2016.08.010.
28. Kuroda N, Figueroa F, O'hUigin C, Klein J. Evidence that the separation of Mhc class II from class I loci in the zebrafish, *Danio rerio*, occurred by translocation. *Immunogenetics* 2002; 54(6):418—430. DOI: 10.1007/s00251-002-0473-5.
29. Solbakken MH, Tørresen OK, Nederbragt AJ et al. Evolutionary redesign of the Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Toll-like receptor repertoire by gene losses and expansions. *Sci Rep* 2016; 6:25211. DOI: 10.1038/srep25211.
30. Flajnik MF, Ohta Y, Namikawa-Yamada C, Nonaka M. Insight into the primordial MHC from studies in ectothermic vertebrates. *Immunol Rev* 1999; 167(1): 59—67. DOI: 10.1111/j.1600-065x.1999.tb01382.x.
31. Kulski JK, Shiina T, Anzai T et al. Comparative genomic analysis of the MHC: the evolution of class I duplication blocks, diversity and complexity from shark to man. *Immunol Rev* 2002; 190(1):95—122. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2002.19008.x.
32. Agrawal A, Eastmant QM, Schatz DG. Transposition mediated by RAG1 and RAG2 and its implications for the evolution of the immune system. *Nature* 1998; 394(6695):744—751. DOI: 10.1038/29457.
33. Matsunaga T, Rahman A. What brought the adaptive immune system to vertebrates? — The jaw hypothesis and the seahorse. *Immunol Rev* 1998; 166: 177—186. DOI: 10.1111/j.1600-065x.1998.tb01262.x.
34. Ohta Y, Okamura K, McKinney EC et al. Primitive synteny of vertebrate major histocompatibility complex class I and class II genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(9):4712. DOI: 10.1073/pnas.97.9.4712.
35. Sato A, Figueroa F, Murray BW et al. Nonlinkage of major histocompatibility complex class I and class II loci in bony fishes. *Immunogenetics* 2000; 51(2): 108—116. DOI: 10.1007/s002510050019.
36. Matsuo MY, Asakawa S, Shimizu N et al. Nucleotide sequence of the MHC class I genomic region of a teleost, the medaka (*Oryzias latipes*). *Immunogenetics* 2002; 53(10):930—940. DOI: 10.1007/s00251-001-0427-3.
37. Hey J. The neutralist, the fly and the selectionist. *Trends Ecol Evol* 1999; 14(1):35—38. DOI: 10.1016/s0169-5347(98)01497-9.
38. Ford MJ. Applications of selective neutrality tests to molecular ecology. *Mol Ecol* 2002; 11(8):1245. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2002.01536.x.
39. Klein J, Figueroa F. Evolution of the major histocompatibility complex. *Crit Rev Immunol* 1986; 6(4):295—386.
40. IPD-IMGT/HLA Database. Available from: <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla>.
41. Garrigan D, Hedrick PW. Perspective: detecting adaptive molecular polymorphism: lessons from the MHC. *Evolution* 2003; 57(8):1707—1722. DOI: 10.1111/j.0014-3820.2003.tb00580.x.
42. Edwards SV, Hedrick PW. Evolution and ecology of MHC molecules: from genomics to sexual selection. *Trends Ecol Evol* 1998; 13(8):305—311. DOI: 10.1016/s0169-5347(98)01416-5.

43. Choo SY. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J* 2007; 48(1):11. DOI: 10.3349/ymj.2007.48.1.11.
44. Kulski JK, Inoko H. Major histocompatibility complex (MHC) genes. *eLS* 2006. DOI: 10.1038/npg.els.0005900.
45. Bahram S. MIC genes: from genetics to biology. *Adv Immunol* 2000; 76:1–60. DOI: 10.1016/s0065-2776(01)76018-x.
46. Shiina T, Inoko H, Kulski JK. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: *Tissue Antigens* 2004; 64(6):631–649. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2004.00327.x.
47. Burgdorf S, Kautz A, Böhnert V et al. Distinct pathways of antigen uptake and intracellular routing in CD4 and CD8 T cell activation. *Science* 2007; 316(5824): 612–616. DOI: 10.1126/science.1137971.
48. Burgdorf S, Kurts C. Endocytosis mechanisms and the cell biology of antigen presentation. *Curr Opin Immunol* 2008; 20(1):89–95. DOI: 10.1016/j.coi.2007.12.002.
49. Караваева О. С., Дроков М. Ю., Хамаганова Е. Г. Т-регуляторные клетки и трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Трансплантология* 2022; 14(4):462–475. DOI: 10.23873/2074-0506-2022-14-4-462-475.
50. Walker JA, McKenzie ANJ. TH2 cell development and function. *Nat Rev Immunol* 2017; 18(2):121–133. DOI: 10.1038/nri.2017.118.
51. Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu Rev Immunol* 2010; 28:445. DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101212.
52. ten Broeke T, Wubbolts R, Stoorvogel W. MHC class II antigen presentation by dendritic cells regulated through endosomal sorting. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013; 5(12):a016873. DOI: 10.1101/cshperspect.a016873.
53. Creagh EM, O'Neill LAJ. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol* 2006; 27(8):352–357. DOI: 10.1016/j.it.2006.06.003.
54. Fukata M, Vamadevan AS, Abreu MT. Toll-like receptors (TLRs) and Nod-like receptors (NLRs) in inflammatory disorders. *Semin Immunol* 2009; 21(4):242–53. DOI: 10.1016/j.smim.2009.06.005.
55. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125(2):S33–40. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.09.017.
56. Kawase T, Tanaka H, Kojima H et al. Impact of high-frequency HLA haplotypes on clinical cytomegalovirus reactivation in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25(12):2482–2489. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.07.042.
57. Futohi F, Saber A, Nemati E et al. Human leukocyte antigen alleles and cytomegalovirus infection after renal transplantation. *Nephrourol Mon* 2015; 7(6): 31635. DOI: 10.5812/numonthly.31635.
58. Sommer S. The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation. *Front Zool* 2005; 2(1):1–18. DOI: 10.1186/1742-9994-2-16.

59. Ober C. Studies of HLA, fertility and mate choice in a human isolate. *Hum Reprod Update* 1999; 5(2):103—107. DOI: 10.1093/humupd/5.2.103.
60. Chowell D, Krishna C, Pierini F et al. Evolutionary divergence of HLA class I genotype impacts efficacy of cancer immunotherapy. *Nat Med* 2019; 25(11):1715. DOI: 10.1038/s41591-019-0639-4.
61. Roerden M, Walz JS, Nelde A et al. HLA evolutionary divergence as a prognostic marker for AML patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Cancers (Basel)* 2020; 12(7):1—10. DOI: 10.3390/cancers12071835.
62. Grantham R. Amino acid difference formula to help explain protein evolution. *Science* 1974; 185(4154):862—864. DOI: 10.1126/science.185.4154.862.
63. Fleischhauer K, Shaw BE. HLA-DP in unrelated hematopoietic cell transplantation revisited: challenges and opportunities. *Blood* 2017; 130(9):1089—1096. DOI: 10.1182/blood-2017-03-742346.
64. Shaw BE, Mayor NP, Russell NH et al. Diverging effects of HLA—DPB1 matching status on outcome following unrelated donor transplantation depending on disease stage and the degree of matching for other HLA alleles. *Leukemia* 2010; 24(1):58—65. DOI: 10.1038/leu.2009.239.
65. Zino E, Frumento G, Marktel S et al. A T-cell epitope encoded by a subset of HLA-DPB1 alleles determines nonpermissive mismatches for hematologic stem cell transplantation. *Blood* 2004; 103(4):1417—1424. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1279.
66. Fleischhauer K, Shaw BE, Gooley T et al. Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: a retrospective study. *Lancet Oncol* 2012; 13(4):366—374. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70004-9.
67. Хамаганова Е. Г., Паровичникова Е. Н., Кузьмина Л. А. и др. Влияние несовместимости по гену HLA DPB1 на результаты трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток от HLA-A-B-C—DRB1-DQB1-совместимого неродственного донора. *Онкогематология* 2018; 13(1):54—62. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-54-62.
68. Wang Y, Liu DH, Xu LP et al. Superior graft-versus-leukemia effect associated with transplantation of haploidentical compared with HLA-identical sibling donor grafts for high-risk acute leukemia: an historic comparison. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17(6):821—830. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.08.023.
69. Gu Z, Wang L, Yuan L et al. Similar outcomes after haploidentical transplantation with post-transplant cyclophosphamide versus HLA-matched transplantation: a meta-analysis of case-control studies. *Oncotarget* 2017; 8(38):63574. DOI: 10.18632/oncotarget.18862.
70. Passweg JR, Baldomero H, Bader P et al. Use of haploidentical stem cell transplantation continues to increase: the 2015 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant* 2017; 52(6):811—817. DOI: 10.1038/bmt.2017.34.
71. Дубняк Д. С., Рисинская Н. В., Дроков М. Ю. и др. Влияние посттрансплантационного циклофосфида на химеризм в популяции Т-регуляторных клеток у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтиче-

- ских стволовых клеток Клеточная терапия и трансплантация 2017; 20(3): 37—40.
72. Попова Н. Н., Савченко В. Г. Реконституция Т-клеточного звена иммунной системы у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Гематология и трансфузиология 2020; 65(1):24—38. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-24-38.
73. Дроков М. Ю., Паровичникова Е. Н., Кузьмина Л. А. и др. Роль гранзима В в популяции Т-регуляторных клеток у больных после трансплантации аллогенного костного мозга. Гематология и трансфузиология 2016; 61(1):32—37. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-1-32-37.
74. Van Rood JJ, Loberiza FR, Zhang MJ et al. Effect of tolerance to noninherited maternal antigens on the occurrence of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation from a parent or an HLA-haploidentical sibling. Blood 2002; 99(5):1572—1577. DOI: 10.1182/blood.v99.5.1572.
75. Stern M, Ruggeri L, Mancusi A et al. Survival after T cell-depleted haploidentical stem cell transplantation is improved using the mother as donor. Blood 2008; 112(7):2990—2995. DOI: 10.1182/blood-2008-01-135285.

Глава 3.

Реконституция иммунной системы после трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток и иммунологическое обоснование профилактики реакции «трансплантат против хозяина»

В основе трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) лежит перенос не только кроветворной, но и донорской иммунной системы реципиенту. Если восстановление кроветворения у реципиентов аллогенных гемопозитических стволовых клеток (ГСК) происходит в течение первого месяца после алло-ТГСК, то восстановление иммунной системы занимает достаточно продолжительный период и продолжается до нескольких лет [1].

С «неполной» реконституцией, то есть в первую очередь с неполным восстановлением количества иммунокомпетентных клеток, связано развитие различных осложнений, прежде всего инфекционных [2]. Важно отметить, что не только количественные нарушения, но и функциональные особенности вместе с взаимодействием различных иммунокомпетентных клеток между собой обуславливают развитие иммунологических осложнений после алло-ТГСК — а именно реакций «трансплантат против опухоли» (РТПО) и «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [3, 4].

Посттрансплантационный период можно разделить на несколько этапов. Первый этап — этап до приживления трансплантата (англ. *pre-engraftment*), включает срок до 30 дней после инфузии аллогенных ГСК реципиенту и характеризуется полной аплазией кроветворения.

На данном этапе проведение адекватной антимикробной терапии и постепенное восстановление гемопоэза позволяет успешно контролировать возникающие в этот период инфекционные осложнения. [2, 5].

Второй этап включает в себя непосредственно приживление трансплантата и последующий ранний посттрансплантационный период, который продолжается от +30-го до +100-го дня (англ. *post-engraftment*). Именно на этом этапе начинается восстановление различных иммунокомпетентных клеток, таких как цитотоксические $CD8^+$ Т-клетки, $CD4^+$ Т-хелперы, NK-клетки, Т-регуляторные клетки (Treg), и других субпопуляций (табл. 1). Полное восстановление иммунокомпетентных клеток происходит в позднем посттрансплантационном периоде, который занимает от 6 месяцев до нескольких лет [5, 6].

Таблица 1. Период восстановления различных субпопуляций клеток иммунной системы после алло-ТГСК [5, 6]

Субпопуляция клеток	Время от алло-ТГСК до восстановления нормального уровня
Натуральные киллеры (NK-клетки)	От 1 до 6 мес
$CD4^+$ Т-хелперы	Более 24 мес
Цитотоксические $CD8^+$ Т-клетки	От 1 до 18 мес
Т-регуляторные клетки (Treg)	От 1 нед до 6 нед
Т-наивные клетки	От 8 до 9 мес
Т-клетки памяти	Более 24 мес
В-клетки ($CD19^+$)	От 4 до 24 мес

Реконституция Т-клеточного звена иммунной системы после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Защита от инфекционных агентов и противоопухолевый контроль в первую очередь зависят от реконституции Т-клеточного звена иммунной системы. Сам процесс его восстановления условно разделяют на два самостоятельных пути: тимусзависимый и тимуснезависимый. В первый месяц после алло-ТГСК восстановление лимфоцитов происходит по тимуснезависимому пути, то есть за счет зрелых донорских Т-клеток, которые содержались в самом трансплантате и были перелиты реципиенту вместе с ГСК, и в меньшей степени за счет экспансии ранее существовавших хозяйских наивных Т-клеток и Т-клеток памяти, которые «выжили» после проведенного кондиционирования [7]. Экспансия как донорских, так и «хозяйских» Т-клеток происходит

в ответ на высокую концентрацию интерлейкина (ИЛ) 7 и ИЛ-15, которые вырабатываются самими Т-клетками в условиях лимфопении. Этот процесс, называемый «гомеостатической пролиферацией», носит компенсаторный характер и позволяет на какое-то время «восполнить» Т-клеточный дефицит [8]. Однако при такой пролиферации не меняется репертуар Т-клеточного рецептора (TCR), так как эти клетки уже являются функционально зрелыми. Кроме этого, такая пролиферация не заменяет периферический пул наивных Т-клеток у реципиента на донорский, так как в случае пролиферации в условиях лимфопении наивные Т-клетки трансформируются в клетки, подобные клеткам памяти (memory-like), утрачивая при этом фенотип наивных Т-клеток. Таким образом, иммунный ответ является ограниченным, ввиду ограниченного репертуара TCR [7, 9, 10]. Образование нового пула Т-клеток при таком пути реконституции не происходит, а в связи с тем, что существование «хозяйских» Т-клеток и донорского Т-компартамента ограничено по времени (3–6 месяцев), то в результате иммунный ответ, который реализуется этими клетками, носит переходящий характер [7].

Образование Т-клеток *de novo* происходит по тимусзависимому пути. Для дальнейшего созревания и пролиферации вновь образованные Т-клетки в костном мозге с током крови переносятся в тимус. Эти незрелые клетки являются предшественниками Т-лимфоцитов. Они не несут на своей поверхности никакого определяющего рецептора (CD3-CD4-CD8⁻), в связи с чем их называют «трижды негативными» тимоцитами или пре-Т клетками. Дальнейшее созревание этих клеток условно можно разделить на два этапа. Первый этап происходит в кортикальном слое тимуса, где эти клетки активно делятся и пролиферируют под действием различных цитокинов, в первую очередь ИЛ-7, который вырабатывается кортикальными эпителиальными клетками [11]. Считается, что именно ИЛ-7 кортикальных эпителиальных клеток регулирует процесс дифференцировки тимоцитов, а именно формирование TCR, который представляет собой поверхностный гетеродимерный белок, состоящий из двух субъединиц (α -, β - или γ -, δ -), с помощью которого Т-клетка распознает антиген и связывается с ним [12].

В основе дифференцировки тимоцитов лежит процесс V(D)J-реаранжировки, результатом которого и является формирование TCR. Гены TCR состоят из сегментов, которые относятся к трем классам: V — отвечающий за «вариабельность», D — отвечающий за «разнообразие» и J — отвечающий за «связывание». В процессе перестройки гены из каждого сегмента связываются друг с другом и образуют один экзон, который кодирует вариабельный участок TCR, отвечающий за распознавание и связывание антигена. У млекопитающих в результате

V(D)J-реаранжировки образуется несколько основных комбинаций генов, которые называются локусами антигенных рецепторов, — это TCRB (локус β -цепи), TCRG (локус γ -цепи), которые располагаются на 7-й хромосоме, и α/δ -локус TCR, расположенный на 14-й хромосоме. В свою очередь α/δ -локус состоит из двух локусов: TCRA и TDRD. При этом гены TDRD располагаются внутри локуса TCRA [13]. Если при перестройке происходит формирование локуса TCRB, то в результате эта клетка будет экспрессировать TCR, состоящий из β -цепи. Одновременно с этим происходит подавление экспрессии генов других локусов TCRG и TDRD и запускается перестройка локуса TCRA, которая заключается в «вырезании» генов локуса TCRD, что приводит к формированию TCR, состоящего из α - и β -цепей, и экспрессии CD4⁺ и CD8⁺ на поверхности Т-клетки [14]. Образовавшиеся CD4⁺CD8⁺ Т-клетки называются «дважды позитивными» Т-клетками, а сам процесс — «позитивной тимической селекцией». Результатом этого процесса является формирование TCR, с помощью которого «дважды позитивные» Т-клетки могут распознавать рецепторы гистосовместимости собственных клеток микроокружения, что нужно для последующего адекватного взаимодействия Т-клеток с антигенпрезентирующими клетками уже в контексте распознавания антигенов. До 75% клеток, которые вступают в процесс позитивной селекции, подвергаются апоптозу ввиду неадекватной реаранжировки TCR [15]. После этого CD4⁺CD8⁺ Т-клетки мигрируют в мозговой слой тимуса, где при взаимодействии с антигенами эпителиальных тимических клеток происходит второй этап дифференцировки этих клеток [16].

Второй этап созревания $\alpha\beta$ -Т-клеток заключается в формировании функциональной зрелости этих клеток, которая определяется способностью распознавать рецепторы гистосовместимости (МНС, МНС-подобные рецепторы). Большая часть (около 90%) $\alpha\beta$ -Т-клеток связывается с молекулами МНС, которые презентуются клетками микроокружения, — это эпителиальные кортикальные клетки, фибробласты, макрофаги и дендритные клетки [15]. В зависимости от того, с каким рецептором МНС связывается Т-клетка, она превращается или в CD8⁺ (связываются с молекулами МНС I класса), или в CD4⁺ (связываются с рецептором МНС II класса). Этот процесс называют «негативной тимической селекцией», который является ключевым механизмом формирования Т-клеточной центральной иммунологической толерантности, то есть невосприимчивости к собственным тканям [17]. Часть CD4⁺CD8⁺ Т-клеток при взаимодействии с эпителиальными кортикальными клетками начинает экспрессировать транскрипционный фактор Foxp3, что в дальнейшем определяет формирование отдельной популяции иммунокомпетентных клеток — популяции CD4⁺CD25^{high}

Т-регуляторных клеток (Treg), которая обеспечивает контроль толерантности к собственным антигенам путем подавления аутореактивных Т-клеток, которые по каким-то причинам избежали селекции в тимусе и вышли на периферию. Помимо этого, Treg регулируют активацию $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, а также подавляют избыточную экспансию эффекторных Т-клеток после элиминации антигена [18, 19].

Таким образом, результатом селекции в тимусе является образование зрелых, экспрессирующих TCR, $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, которые далее выходят в периферическую кровь и разносятся по органам и тканям организма. Эти клетки называют недавними эмигрантами из тимуса (recent thymic emigrants, RTE). Однако зрелые RTE-клетки в то же самое время являются функционально «незрелыми» или наивными Т-клетками, ввиду того что они еще не встречались с чужеродным антигеном [16, 17].

Продукция RTE-клеток зависит от возраста (рис. 1). Известно, что у детей первого года жизни продукция RTE-клеток является максимальной, что обеспечивает разнообразие репертуара TCR и в дальнейшем позволяет реализовать иммунный ответ против широкого спектра различных антигенов. По мере взросления выработка RTE-клеток постепенно уменьшается, а постоянство периферического Т-клеточного пула происходит не за счет продукции RTE-клеток и разнообразия TCR, а в большей степени за счет пролиферации Т-клеток на периферии [12].

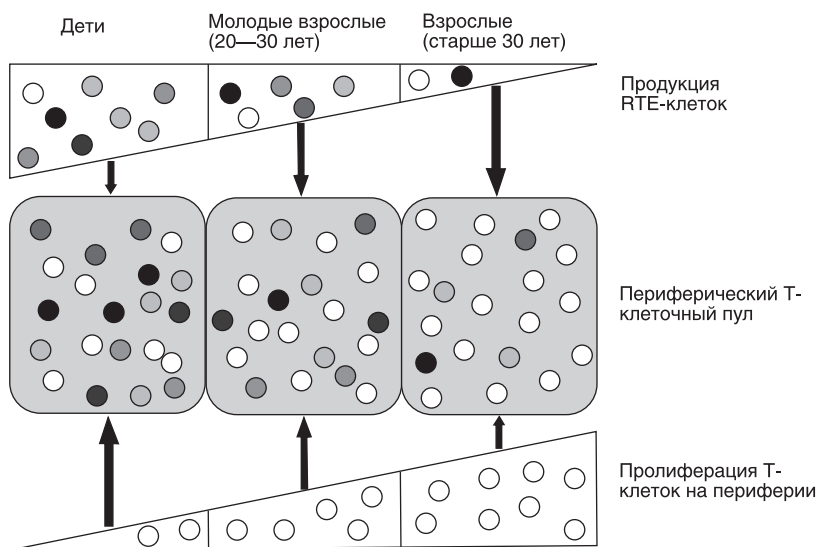


Рисунок 1. Продукция RTE-клеток в зависимости от возраста [12].

Постоянство Т-клеточного пула определяется двумя факторами: продукцией RTE-клеток и пролиферацией зрелых Т-клеток на периферии. С возрастом выработка наивных Т-клеток с различным репертуаром TCR в тимусе уменьшается, а постоянство Т-клеточного пула осуществляется за счет зрелых Т-клеток, характеризующихся ограниченным репертуаром TCR, на периферии.

Возможность реализации иммунного ответа определяется не только этапами дифференцировки образующихся Т-клеток в тимусе, но и является антигензависимой, так как для обеспечения своей эффекторной функции $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки в дальнейшем должны связаться с антигеном через молекулу МНС [17]. Таким образом, эта популяция Т-клеток в дальнейшем формирует адаптивный или вторичный иммунный ответ, то есть иммунный ответ против конкретного антигена.

Другая, существенно меньшая, часть $\alpha\beta$ -Т-клеток взаимодействует не с молекулами МНС, а с МНС-подобными рецепторами MR1 (Т-клетки, ассоциированные со слизистыми, MAIT) или CD1d (Т-клетки — натуральные киллеры, NKT-клетки). MAIT представляют собой субпопуляцию Т-клеток, которые преимущественно локализуются в слизистых желудочно-кишечного тракта, бронхолегочной системы, а циркулирующий пул составляет не более 10% от общего числа циркулирующих Т-лимфоцитов. NKT-клетки — наименьшая субпопуляция иммунокомпетентных клеток, численность которой не превышает 0,1% от общего количества циркулирующих Т-клеток. Активация и MAIT-, и NKT-клеток не требует распознавания МНС и является антиген-независимой, что обуславливает способность этих клеток взаимодействовать с любым антигеном. Эти клетки также отличаются способностью вырабатывать различные цитокины, такие как фактор некроза опухоли (ФНО), интерферон- γ (INF- γ), ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-17, что позволяет им быстро реализовать цитотоксическую функцию [20, 21].

Если при V(D)J-реаранжировке «дважды негативных» тимоцитов происходит формирование TCRG и TDRD, то в результате Т-клетка экспрессирует TCR, состоящий из γ - и δ -цепей. $\gamma\delta$ -Т-клетки не проходят процесс позитивной тимической селекции и выходят в периферическую кровь, не неся на своей поверхности ни CD8, ни CD4 [14]. Поскольку созревание $\gamma\delta$ -Т-клеток определяется фактически только процессом V(D)J-реаранжировки, их функциональная способность зависит от разнообразия их TCR, что в результате дает возможность этим клеткам взаимодействовать с любым антигеном, что является ключевым в реализации первичного (врожденного) иммунного ответа [13, 14]. Эти клетки преимущественно локализуются в слизистых, а цирку-

лирующий пул $\gamma\delta$ -Т-клеток составляет не более 10 % от общего числа Т-лимфоцитов [20].

Таким образом, в результате тимусзависимого пути образуются две большие группы Т-клеток, функция которых определяется способностью связывания с антигеном и, соответственно, участием в формировании первичного или вторичного иммунного ответа. Большинство Т-клеток взаимодействуют с антигеном с участием молекулы МНС (это $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоциты) и участвуют в формировании адаптивного иммунного ответа. Эти клетки также называют конвенциональными Т-клетками. Другая часть Т-клеток, к которой относятся МАИТ-, НКТ-клетки и $\gamma\delta$ -Т-клетки, являются неконвенциональными Т-клетками, так как для их активации не требуется связывание с антигеном с участием МНС, что дает им возможность взаимодействовать фактически с любым антигеном и формирует «первую линию» иммунной защиты, другими словами, первичный иммунный ответ [20, 21].

Иммунный ответ при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Основной эффект алло-ТГСК основан не столько на миелоаблативном воздействии, сколько на развитии аллоиммунной реакции — РТПО, которая, по сути, является реализацией иммунного ответа против конкретного антигена, в данном случае — опухолевого. Другими словами, феномен именно биологического излечения больных различными опухолевыми заболеваниями системы крови после алло-ТГСК заключается именно в восстановлении адаптивного иммунитета. После того как инородный антиген впервые попал в организм, происходит его связывание с наивными Т-клетками через TCR. Связывание антигена наивной Т-клеткой приводит к ее активации, структурной реорганизации ее мембраны и цитоскелета, ремоделированию хроматина и экспрессии новых генов, изменениям в адгезии и миграции клеток, а также индукции клеточного деления. В результате этих перестроек формируется пул эффекторных Т-клеток, которые и уничтожают этот антиген [22].

Известно, что весь процесс трансформации наивных клеток в эффекторный пул занимает около недели [22, 23]. В исследованиях на мышах было показано, что на 8-й день после инфицирования вирусом лимфоцитарного хориоменингита в периферической крови определяется максимальное количество эффекторных Т-клеток, которые экспрессируют на своей поверхности активационный маркер CD44, утра-

чивая при этом хоуминг-рецепторы и маркеры адгезии. Помимо этого, эти клетки секретируют различные цитокины, такие как INF- γ , посредством которых они реализуют свою цитотоксическую функцию. Нужно отметить, что наивные Т-клетки не экспрессируют CD44 и не секретируют провоспалительные цитокины, что говорит о том, что они не способны к реализации эффекторной функции. Отличительной особенностью наивных Т-клеток является экспрессия как раз хоуминг-рецепторов, например CCR-7 или L-селектина, что дает возможность этим клеткам мигрировать во вторичные лимфоидные органы, где и происходит их финальная трансформация в эффекторные Т-клетки [23, 24].

После элиминации антигена часть эффекторных клеток погибает, а часть переходит в пул долгоживущих Т-клеток памяти. Формирование этого пула Т-клеток требует длительного времени. Показано, что Т-клетки памяти начинают определяться в периферической крови только к 40-му дню после первичного инфицирования [23]. Однако помимо классического пути формирования «иммунологической памяти» (наивные Т-клетки > эффекторные Т-клетки > Т-клетки памяти) есть неклассический путь, когда при первичном инфицировании часть наивных Т-клеток трансформируется в эффекторный пул, а другая часть сразу же переходит в пул Т-клеток памяти [25, 26]. Как при классическом, так и при неклассическом пути происходит формирование популяции иммунокомпетентных клеток (популяции Т-клеток памяти), которая реализует быстрый иммунный ответ при повторном попадании чужеродного антигена без участия наивных Т-клеток [24]. Пул Т-клеток памяти является гетерогенным, так как включает в себя иммунокомпетентные клетки, которые, имея различный иммунофенотип, различаются своими функциональными свойствами, различной пролиферативной способностью и локализацией (табл. 2) [27, 28]. Условно Т-клетки памяти разделяют на две группы: истинные клетки памяти, к которым относят Т-стволовые клетки памяти (Tscm) и Т-клетки центральной памяти (Tcm), и эффекторный пул, состоящий из переходных Т-клеток (или Т-клеток транзиторной памяти, Ttm), Т-клеток эффекторной памяти (Tem), Т-терминальных эффекторов (Tte) и Т-клеток резидуальной памяти (Trm) [29, 30].

В ходе многих исследований было выявлено, что Т-клетки памяти, в первую очередь, имеют различный иммунофенотип [27—30]. Показано, что основными маркерами этих клеток являются CD45RA, CD45R0, CD62L, CCR-7, CD27, CD28 [30].

CD45 представляет собой трансмембранный гликопротеин, который экспрессируется на всех ядродержащих клетках. Через этот рецептор происходит передача сигнала от TCR. Вместе с тем выделяют

Таблица 2. Основные субпопуляции Т-клеток памяти [30]

Субпопуляции Т-клеток памяти		Иммунофенотип	Свойства
Истинные клетки памяти	Т-стволовые клетки памяти (Tscm)	CD45RA ⁺ CD45R0 ⁻ CD62L ⁺ CCR-7 ⁺ CD27 ⁺ CD28 ⁺	Обеспечивают самообновление и самоподдержание популяции клеток памяти и хранение информации о конкретном антигене. Локализуются преимущественно в костном мозге и лимфатической ткани
	Т-клетки центральной памяти (Tcm)	CD45RA ⁻ CD45R0 ⁺ CD62L ⁺ CCR-7 ⁺ CD27 ⁺ CD28 ⁺	Обеспечивают самоподдержание Т-клеток памяти, преимущественно локализуются в лимфатических узлах и костном мозге, способны быстро дифференцироваться в эффекторные клетки через Т-клетки транзиторной памяти
Эффекторный пул	Т-клетки транзиторной памяти (Ttm)	CD45RA ⁻ CD45R0 ⁺ CD62L ⁻ CCR-7 ⁻ CD27 ⁺ CD28 ⁺	Способны к быстрой дифференцировке в эффекторные клетки при контакте с антигеном, после чего они переходят в Tcm
	Т-клетки эффекторной памяти (Tem)	CD45R0 ⁺ CCR-7 ⁻ CD27 ⁺ CD28 ⁻ (оценка CD45RA и CD62L не производится)	Преимущественно определяются в циркулирующей крови и тканях, быстро реагируют на встречу с антигеном и обеспечивают развитие иммунного ответа
	Т-терминальные эффекторы (Tte)	CD45R0 ⁻ CCR-7 ⁻ CD27 ⁻ CD28 ⁻ (оценка CD45RA и CD62L не производится)	Наиболее дифференцированные эффекторные клетки, обеспечивающие быстрый иммунный ответ против конкретного антигена
	Т-клетки резидентной памяти (Ttm)	CD69 ⁺ CD103 ⁺ CD62L ⁻	Являются терминально дифференцированными эффекторными клетками, реализующими иммунный ответ в месте своей локализации в различных органах и тканях (коже, бронхолегочной системе и желудочно-кишечном тракте)

несколько изоформ CD45, которые по-разному экспрессируются на Т-клетках. Иммунофенотип CD45RA⁺CD45R0⁻ характеризует наивные Т-клетки. Есть исследования, которые показали, что при активации эти клетки начинают экспрессировать CD45R0 и утрачивают CD45RA [31, 32]. Таким образом, экспрессия CD45R0 отражает пролиферативную способность Т-клеток и характерна для популяции Т-клеток памяти (Tcm, Ttm, Tem) [31].

Экспрессия хоуминг-рецепторов и маркеров адгезии характеризует способность Т-клеток к миграции во вторичные лимфоидные органы.

Экспрессия CD62L и CCR-7 характерна в большей степени для наивных Т-клеток и истинных Т-клеток памяти, что отражает их больший пролиферативный потенциал. Более дифференцированные Т-клетки эффекторного пула (T_{tm}, T_{em}, T_{te}) не экспрессируют эти маркеры, что свидетельствует о том, что эти клетки не способны к пролиферации во вторичных лимфоидных органах [33]. Как правило, вместе с экспрессией молекул адгезии Т-клетки экспрессируют и ко-стимулирующие рецепторы CD27, CD28 [30].

Отличительной особенностью популяции истинных клеток памяти является их способность к длительной пролиферации даже в отсутствие антигена, что обеспечивает самоподдержание всей популяции. На этом основан феномен «иммунологической памяти», что позволяет хранить информацию о конкретном антигене и при его попадании в организм реализовать иммунный ответ против него [34–36]. Долгое время считалось, что субпопуляцией истинных клеток памяти является популяция T_{cm} [27, 28]. Однако в дальнейшем была выделена субпопуляция T_{scm}, которая функционально соответствовала популяции T_{cm}, однако иммунофенотипически в большей степени походила на наивные Т-клетки (CD45RA⁺CD45R0[?]CCR-7⁺CD62L⁺CD27⁺CD28⁺) [37, 38]. В результате проведенных экспериментов по заражению макаком вирусом иммунодефицита было выявлено, что эта субпопуляция способна к значимо более длительной пролиферации даже в условиях отсутствия вируса в сравнении с субпопуляцией T_{cm} [39, 40]. В дальнейшем было доказано, что T_{scm} являются предшественниками как T_{cm}, так и Т-клеток эффекторного пула [41, 42].

Исследования показали, что среди всей популяции Т-клеток памяти есть клетки, которые характеризуются продукцией INF- γ , ФНО, ИЛ-2, с помощью которых они быстро реализуют свою цитотоксическую функцию. Истинные клетки памяти сами не могут реализовать быстрый иммунный ответ. Была выделена популяция эффекторных Т-клеток памяти [27, 43]. Однако в ряде случаев было замечено, что в периферической крови встречается субпопуляция Т-клеток с иммунофенотипом CCR-7⁻/CD62L⁻CD28⁺, которая является более «зрелой» и более «активной», чем субпопуляция T_{cm}, но менее дифференцированной, чем субпопуляция T_{em}. Таким образом, эти клетки были названы переходными или транзиторными Т-клетками (T_{tm}) [44–46]. Помимо этого, в периферической крови также нередко определяются Т-клетки, которые не несут на своей поверхности ни CCR-7, CD62L, ни CD27, CD28. Отличительной чертой этой популяции является крайне низкая способность к пролиферации, что также свидетельствует о высокой дифференцировке этих клеток. Они были определены как терминальные эффекторные Т-клетки (T_{te}) [47].

Кроме циркулирующего пула Т-клеток памяти есть пул нециркулирующих Т-клеток резидуальной памяти (T_{rm}), который характеризуется высокой экспрессией CD69 и провоспалительных цитокинов INF- γ , ФНО, ИЛ-2, ИЛ-17. Чаще всего эти клетки определяются на слизистых и функционально являются эффекторными клетками, реализующими иммунный ответ непосредственно в месте своей локализации [36, 48].

Таким образом, формирование адаптивного иммунитета основывается на формировании пула долгоживущих Т-клеток памяти (T_{scm} , T_{cm}), активация которых происходит в результате повторного контакта с антигеном, что в дальнейшем запускает формирование пула эффекторных Т-клеток, непосредственно реализующих сам иммунный ответ. Формирование адаптивного иммунитета невозможно без участия наивных Т-клеток, которые, по сути, являются предшественниками всей популяции Т-клеток памяти. Наиболее дифференцированные Т-клетки — терминальные эффекторы, являются наиболее функционально активной субпопуляцией, но при этом не обладают пролиферативной способностью и погибают сразу же после реализации своей эффекторной функции.

Долгое время считалось, что аллореактивными Т-клетками, которые запускают развитие РТПХ, являются функционально активные, терминально дифференцированные Т-клетки [49, 50]. Однако исследования показали, что через 12 часов после инфузии аллогенных ГСК и до +3-го дня большинство донорских Т-клеток экспрессируют хемотаксический рецептор CCR-7 и хоуминг-рецепторы: CD4⁺ Т-клетки экспрессируют L-селектин (CD62L), CD8⁺ Т-клетки — CD62L и $\alpha 4\beta 7$ -интегрин. Именно это и обуславливает возможность миграции этих клеток в различные органы и ткани, где они и запускают РТПХ [51, 52]. В эксперименте на мышах была доказана принадлежность этой аллореактивной популяции CD62L⁺CCR-7⁺ Т-клеток к наивным Т-лимфоцитам, инфильтрация которыми была выявлена в ткани желудочно-кишечного тракта тех мышей, у которых впоследствии развилась тяжелая острая РТПХ [51]. Вместе с тем было показано, что зрелые функционально активные Т-клетки не индуцируют развитие РТПХ, так как они не способны к пролиферации во вторичных лимфоидных органах и дальнейшей миграции в органы-мишени ввиду отсутствия CD62L и CCR-7 [52]. Таким образом, было доказано, что аллореактивными Т-клетками, которые индуцируют развитие острой РТПХ, являются наивные Т-лимфоциты, а не эффекторные Т-клетки.

Иммунологическое обоснование профилактики реакции «трансплантат против хозяина» при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток и возможности для реконституции Т-клеточного звена иммунной системы

На всех вышеперечисленных данных основано рутинное использование циклофосфида (ЦФ) на +3-й, +4-й день после алло-ТГСК в качестве профилактики острой РТПХ, который удаляет сформировавшийся к этому времени клон аллореактивных Т-клеток и тем самым предупреждает развитие острой РТПХ [53, 54]. Помимо этого, важно отметить, что ЦФ практически не оказывает влияния на истинные Т-клетки памяти (T_{cm} и T_{scm}). Это в свою очередь говорит о меньшем его воздействии на тимус, что обеспечивает возможность дальнейшей реконституции адаптивного иммунитета [55, 56].

Альтернативой ЦФ в режимах профилактики острой РТПХ является антиtimoцитарный глобулин (АТГ). Однако его применение значительно удлиняет время восстановления практически всех субпопуляций иммунокомпетентных клеток ввиду того, что сам препарат является поликлональным антителом, которое получают из гипериммунной сыворотки лошадей (тимоглобулин — из кроличьей сыворотки), иммунизированных Т-лимфоцитами человека. Эта сыворотка содержит широкий спектр антител, которые комплементарно связываются со своими эпитопами на Т-клетках реципиента и тем самым обеспечивают массивную Т-клеточную деплецию как в периферической крови, так и в лимфоидных тканях. Помимо того, что АТГ деплетирует весь лимфоидный компартмент, он также оказывает воздействие на тимус, вызывая апоптоз кортикальных эпителиальных клеток тимуса, что приводит к отсроченной реконституции всего Т-клеточного пула в течение более чем 2 лет после алло-ТГСК [57, 58].

При сравнении режимов с АТГ и с ЦФ было показано, что после использования ЦФ в течение первого месяца после алло-ТГСК содержание $\alpha\beta$ -Т-клеток значимо выше, чем после применения АТГ [59]. Содержание как $CD4^+$, так и $CD8^+$ Т-клеток на +730-й день после алло-ТГСК с АТГ все еще не достигает нормальных значений [60]. Это объясняет и лучшие клинические результаты при использовании ЦФ по сравнению с АТГ в режимах профилактики острой РТПХ [61—63], которые показывают значимо меньшую частоту развития тяжелой острой РТПХ, лучшую общую и безрецидивную выживаемость.

Другим патогенетически обоснованным методом профилактики острой РТПХ является применение ведолизумаба, который представляет собой моноклональное антитело. Механизм действия основан на связывании с $\alpha 4\beta 7$ -интегрином, что блокирует миграцию Т-клеток в органы-мишени и предупреждает развитие РТПХ [64].

Восстановление Т-клеточного звена иммунной системы после алло-ТГСК является возможным, в первую очередь, благодаря способности Т-клеток к пролиферации и при необходимости генерации эффекторного пула Т-клеток *in vivo*. В экспериментах на мышах было показано, что трансплантация только лишь эффекторных Т-клеток, даже в больших дозах, не обеспечивает реконституцию Т-клеточного звена иммунной системы, ввиду того что эти клетки не обладают пролиферативной способностью [65—67]. Трансплантация же селектированных Т-клеток центральной памяти (T_{cm}) приводит к генерации пула эффекторных Т-клеток без развития РТПХ [68]. Однако при иммунофенотипировании и анализе репертуара Т-клеточного рецептора было доказано, что только лишь наивные Т-клетки и стволовые Т-клетки памяти (T_{scm}) могут обеспечить генерацию гетерогенного пула Т-клеток памяти, включая T_{scm} и эффекторный пул [42]. На основании всего вышесказанного, применение деплеции $\alpha\beta$ -Т-клеток *ex vivo* как метода профилактики острой РТПХ, с одной стороны, практически полностью исключает возможность развития этого осложнения, так как в его основе лежит механическое удаление из трансплантата прежде всего наивных Т-клеток [69]. Однако, с другой стороны, применение этого метода профилактики РТПХ с биологической точки зрения, особенно у взрослых больных (старше 20 лет), не может обеспечить полноценное восстановление Т-клеточного звена иммунной системы. Это связано с тем, что в такой ситуации восстановление Т-клеточного звена осуществляется за счет гомеостатической пролиферации $\gamma\delta$ -Т-клеток, которые реализуют первичный иммунный ответ, но не обеспечивают развитие адаптивного иммунитета, в том числе и противоопухолевого [70, 71]. Помимо этого, у этих больных образование *de novo* наивных $\alpha\beta$ -Т-клеток ограничено повреждением тимуса в результате предшествующей химиотерапии и проведением предтрансплантационного кондиционирования, а также возрастными изменениями (инволюцией тимуса) [72—76].

Считается, что использование миелоаблативных режимов ассоциировано с отсроченной реконституцией Т-клеточного звена иммунной системы [77, 78]. Показано, что проведение тотального облучения тела или использование бусульфана в миелоаблативной дозе вызывает необратимую гибель эпителиальных кортикальных клеток тимуса, в результате чего образование лимфоидных популяций становится

практически невозможным даже у детей [75, 76]. Использование режимов пониженной интенсивности значительно меньше повреждает эпителиальные клетки тимуса, что дает возможность для более быстрого восстановления Т-клеточного звена по сравнению с миелоаблативными режимами [79, 80]. Это доказывает выявление RTE-клеток в периферической крови больных после режима пониженной интенсивности уже на сроках +3 — +6 — +12 месяцев после алло-ТГСК. При этом у больных после миелоаблативного кондиционирования RTE-клетки на этих же сроках не определяются [81, 82]. Помимо этого было показано, что восстановление количества наивных Т-клеток у детей после алло-ТГСК в режиме пониженной интенсивности достигает физиологической нормы не менее чем через 2 года. У взрослых (старше 20 лет) даже через 3 года после алло-ТГСК количество наивных Т-клеток остается значительно ниже возрастной нормы [83].

Таким образом, полноценное восстановление Т-клеточного звена иммунной системы после алло-ТГСК зависит от продукции наивных Т-клеток *de novo*, которая в дальнейшем приводит к формированию адаптивного, в том числе противоопухолевого, иммунитета. Возраст больных, а также выбор предтрансплантационного кондиционирования и режима профилактики острой РТПХ влияют на скорость восстановления Т-клеточного звена иммунной системы у больных после алло-ТГСК.

Важно понимать, что эффективность алло-ТГСК особенно у пациентов с злокачественными заболеваниями системы крови основывается на иммунологических аспектах, понимание которых дает возможность для проведения патогенетически обусловленной терапии, которая позволяет минимизировать и в ряде случаев избежать избыточной иммуносупрессии и развития сопутствующих инфекционных и других посттрансплантационных осложнений.

Литература

1. Mehta RS, Rezvani K. Immune reconstitution post allogeneic transplant and the impact of immune recovery on the risk of infection. *Virulence* 2016; 7(8):901—916. DOI: 10.1080/21505594.2016.1208866.
2. Kim BE, Koh KN, Im HJ, Seo JJ. Factors influencing lymphocyte reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children. *Korean J Hematol* 2012; 47(1):44—52. DOI: 10.5045/kjh.2012.47.1.44.
3. de Koning C, Plantinga M, Besseling P et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation in children. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(2):195—206. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.08.028.

4. Drovok MY, Davydova JO, Kuzmina LA et al. Level of granzyme B-positive T-regulatory cells is a strong predictor biomarker of acute graft-versus-host disease after day +30 after allo-HSCT. *Leuk Res* 2017; 54:25—29. DOI: 10.1016/j.leukres.2017.01.014.
5. Williams KM, Gress RE. Immune reconstitution and implications for immunotherapy following haematopoietic stem cell transplantation. *Best Pract Res Clin Haematol* 2008; 21(3):579—596. DOI: 10.1016/j.beha.2008.06.003.
6. Ogonek J, Kralj Juric M, Ghimire S et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol* 2016; 7:507. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00507.
7. Krenger W, Blazar BR, Holländer GA. Thymic T-cell development in allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2011; 117(25):6768—6776. DOI: 10.1182/blood-2011-02-334623.
8. Bourgeois C, Stockinger B. T cell homeostasis in steady state and lymphopenic conditions. *Immunol Lett* 2006; 107(2):89—92. DOI: 10.1016/j.imlet.2006.08.001.
9. Ge Q, Rao VP, Cho BK et al. Dependence of lymphopenia-induced T cell proliferation on the abundance of peptide/MHC epitopes and strength of their interaction with T cell receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(4):1728—1733. DOI: 10.1073/pnas.98.4.1728.
10. Jameson SC. T cell homeostasis: keeping useful T cells alive and live T cells useful. *Semin Immunol* 2005; 17(3):231—237. DOI: 10.1016/j.smim.2005.02.003.
11. Pénit C, Lucas B, Vasseur F. Cell expansion and growth arrest phases during the transition from precursor (CD4-8-) to immature (CD4+8+) thymocytes in normal and genetically modified mice. *J Immunol* 1995; 155(10):5103—5113.
12. Ye P, Kirschner DE. Measuring emigration of human thymocytes by T-cell receptor excision circles. *Crit Rev Immunol* 2002; 22(5—6):483—497.
13. Onozawa M, Aplan PD. Illegitimate V(D)J recombination involving nonantigen receptor loci in lymphoid malignancy. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51(6):525—535. DOI: 10.1002/gcc.21942.
14. Kreslavsky T, Gleimer M, Garbe AI, von Boehmer H. $\alpha\beta$ versus $\gamma\delta$ fate choice: counting the T-cell lineages at the branch point. *Immunol Rev* 2010; 238(1):169—181. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2010.00947.x.
15. Albano F, Vecchio E, Renna M et al. Insights into thymus development and viral thymic infections. *Viruses* 2019; 11(9):836. DOI: 10.3390/v11090836.
16. Godfrey DI, Kennedy J, Suda T, Zlotnik A. A developmental pathway involving four phenotypically and functionally distinct subsets of CD3-CD4-CD8- triple-negative adult mouse thymocytes defined by CD44 and CD25 expression. *J Immunol* 1993; 150(10):4244-52.
17. Gardner JM, Fletcher AL, Anderson MS, Turley SJ. AIRE in the thymus and beyond. *Curr Opin Immunol* 2009; 21(6):582—589. DOI: 10.1016/j.coi.2009.08.007.
18. Kondelková K, Vokurková D, Krejsek J et al. Regulatory T cells (TREG) and their roles in immune system with respect to immunopathological disorders. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2010; 53(2):73—77. DOI: 10.14712/18059694.2016.63.

19. Дроков М. Ю., Паровичникова Е. Н., Кузьмина Л. А. и др. Роль гранзи-ма В в популяции Т-регуляторных клеток у больных после трансплантации аллогенного костного мозга. *Гематология и трансфузиология* 2016; 61(1): 32—37. DOI 10.18821/0234-5730-2016-61-1-32-37.
20. Ivanov S, Paget C, Trottein F. Role of non-conventional T lymphocytes in respiratory infections: the case of the pneumococcus. *PLoS Pathog* 2014; 10(10):e1004300. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004300.
21. Yamamoto R, Xu Y, Ikeda S et al. Thymic development of a unique bone marrow-resident innate-like T cell subset with a potent innate immune function. *J Immunol* 2019; 203(1):167—177. DOI: 10.4049/jimmunol.1900111.
22. Oehen S, Brduscha-Riem K. Differentiation of naive CTL to effector and memory CTL: correlation of effector function with phenotype and cell division. *J Immunol* 1998; 161(10):5338—5346.
23. Kaech SM, Hemby S, Kersh E, Ahmed R. Molecular and functional profiling of memory CD8 T cell differentiation. *Cell* 2002; 111(6):837—851. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)01139-x.
24. Lau CM, Sun JC. The widening spectrum of immunological memory. *Curr Opin Immunol* 2018; 54:42—49. DOI: 10.1016/j.coi.2018.05.013.
25. Lauvau G, Viji S, Kong P et al. Priming of memory but not effector CD8 T cells by a killed bacterial vaccine. *Science* 2001; 294(5547):1735—1739. DOI: 10.1126/science.1064571.
26. Manjunath N, Shankar P, Wan J et al. Effector differentiation is not prerequisite for generation of memory cytotoxic T lymphocytes. *J Clin Invest* 2001; 108(6): 871-8. DOI: 10.1172/JCI13296.
27. Sallusto F, Lenig D, Förster R et al. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999; 401(6754): 708—712. DOI: 10.1038/44385.
28. Hamann D, Baars PA, Rep MH et al. Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8+ T cells. *J Exp Med* 1997; 186(9): 1407—1418.
29. Mahnke YD, Beddall MH, Roederer M. OMIP-013: differentiation of human T-cells. *Cytometry A* 2012; 81(11):935—936. DOI: 10.1002/cyto.a.22201.
30. Mahnke YD, Brodie TM, Sallusto F et al. The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets. *Eur J Immunol* 2013; 43(11):2797—2809. DOI: 10.1002/eji.201343751.
31. Johannisson A, Festin R. Phenotype transition of CD4+ T cells from CD45RA to CD45R0 is accompanied by cell activation and proliferation. *Cytometry* 1995; 19(4):343—352. DOI: 10.1002/cyto.990190409.
32. Akbar AN, Terry L, Timms A et al. Loss of CD45R and gain of UCHL1 reactivity is a feature of primed T cells. *J Immunol* 1988; 140(7):2171—2178.
33. Picker LJ, Treer JR, Ferguson-Darnell B et al. Control of lymphocyte recirculation in man. II. Differential regulation of the cutaneous lymphocyte-associated antigen, a tissue-selective homing receptor for skin-homing T cells. *J Immunol* 1993; 150(3):1122—1136.

34. Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol* 2004; 22:745—763. DOI: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104702.
35. Stemmerger C, Neuenhahn M, Gebhardt FE et al. Stem cell-like plasticity of naïve and distinct memory CD8+ T cell subsets. *Semin Immunol* 2009; 21(2): 62—68. DOI: 10.1016/j.smim.2009.02.004.
36. Mueller SN, Gebhardt T, Carbone FR, Heath WR. Memory T cell subsets, migration patterns, and tissue residence. *Annu Rev Immunol* 2013; 31:137—161. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032712-095954.
37. Fagnoni FF, Vescovini R, Passeri G et al. Shortage of circulating naïve CD8(+) T cells provides new insights on immunodeficiency in aging. *Blood* 2000; 95(9):2860—2868.
38. Lugli E, Pinti M, Nasi M et al. Subject classification obtained by cluster analysis and principal component analysis applied to flow cytometric data. *Cytometry A* 2007; 71(5):334—344. DOI: 10.1002/cyto.a.20387.
39. Gattinoni L, Lugli E, Ji Y et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. *Nat Med* 2011; 17(10):1290—1297. DOI: 10.1038/nm.2446.
40. Lugli E, Dominguez MH, Gattinoni L et al. Superior T memory stem cell persistence supports long-lived T cell memory. *J Clin Invest* 2013; 123(2):594—599. DOI: 10.1172/JCI166327.
41. Feuerer M, Beckhove P, Bai L et al. Therapy of human tumors in NOD/SCID mice with patient-derived reactivated memory T cells from bone marrow. *Nat Med* 2001; 7(4):452—458. DOI: 10.1038/86523.
42. Cieri N, Oliveira G, Greco R et al. Generation of human memory stem T cells after haploidentical T-replete hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2015; 125(18):2865—2874. DOI: 10.1182/blood-2014-11-608539.
43. Gattinoni L, Speiser DE, Lichterfeld M, Bonini C. T memory stem cells in health and disease. *Nat Med* 2017; 23(1):18—27. DOI: 10.1038/nm.4241.
44. Fritsch RD, Shen X, Sims GP et al. Stepwise differentiation of CD4 memory T cells defined by expression of CCR7 and CD27. *J Immunol* 2005; 175(10): 6489—6497. DOI: 10.4049/jimmunol.175.10.6489.
45. Okada R, Kondo T, Matsuki F et al. Phenotypic classification of human CD4+ T cell subsets and their differentiation. *Int Immunol* 2008; 20(9):1189—1199. DOI: 10.1093/intimm/dxn075.
46. Picker LJ, Reed-Inderbitzin EF, Hagen SI et al. IL-15 induces CD4 effector memory T cell production and tissue emigration in nonhuman primates. *J Clin Invest* 2006; 116(6):1514—1524. DOI: 10.1172/JCI27564.
47. Geginat J, Lanzavecchia A, Sallusto F. Proliferation and differentiation potential of human CD8+ memory T-cell subsets in response to antigen or homeostatic cytokines. *Blood* 2003; 101(11):4260—4266. DOI: 10.1182/blood-2002-11-3577.
48. Schreiner D, King CG. CD4+ memory T cells at home in the tissue: mechanisms for health and disease. *Front Immunol* 2018; 9:2394. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02394.
49. Billingham RE. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect* 1966; 62:21—78.

50. Krenger W, Holländer GA. The immunopathology of thymic GVHD. *Semin Immunopathol* 2008; 30(4):439—456. DOI: 10.1007/s00281-008-0131-6.
51. Beilhack A, Schulz S, Baker J et al. In vivo analyses of early events in acute graft-versus-host disease reveal sequential infiltration of T-cell subsets. *Blood* 2005; 106(3):1113—1122. DOI: 10.1182/blood-2005-02-0509.
52. Wysocki CA, Panoskaltsis-Mortari A, Blazar BR, Serody JS. Leukocyte migration and graft-versus-host disease. *Blood* 2005; 105(11):4191—4199. DOI: 10.1182/blood-2004-12-4726.
53. Дроков М. Ю., Паровичникова Е. Н., Кузьмина Л. А. и др. Трансплантация аллогенного костного мозга без проведения предтрансплантационного кондиционирования с использованием циклофосфида и мезенхимальных стромальных клеток в качестве индукции толерантности. *Гематология и трансфузиология* 2014; 59(1):42—46.
54. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(6):641—650. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.03.005.
55. Cieri N, Peccatori J, Oliveiera G et al. Tracking T cell dynamics in the first month after haploidentical HSCT with post-transplant cyclophosphamide reveals a predominant contribution of memory stem T cells to the early phase of immune reconstitution. *Blood* 2013; 122(21):4615. DOI: 10.1182/blood.V122.21.4615.4615.
56. Al-Homsi AS, Roy TS, Cole K et al. Post-transplant high-dose cyclophosphamide for the prevention of graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(4):604—11. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.08.014.
57. Servais S, Menten-Dedoyart C, Beguin Y et al. Impact of pre-transplant anti-T cell globulin (ATG) on immune recovery after myeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *PLoS One* 2015; 10(6):e0130026. DOI: 10.1371/journal.pone.0130026.
58. Storek J, Mohty M, Boelens JJ. Rabbit anti-T cell globulin in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(6):959—970. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.11.676.
59. Retière C, Willem C, Guillaume T et al. Impact on early outcomes and immune reconstitution of high-dose post-transplant cyclophosphamide vs anti-thymocyte globulin after reduced intensity conditioning peripheral blood stem cell allogeneic transplantation. *Oncotarget* 2018; 9(14):11451—11464. DOI: 10.18632/oncotarget.24328.
60. Bosch M, Dhadda M, Hoegh-Petersen M et al. Immune reconstitution after anti-thymocyte globulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Cytherapy* 2012; 14(10):1258—1275. DOI: 10.3109/14653249.2012.715243.
61. Battipaglia G, Labopin M, Kröger N et al. Posttransplant cyclophosphamide vs antithymocyte globulin in HLA-mismatched unrelated donor transplantation. *Blood* 2019; 134(11):892—899. DOI: 10.1182/blood.2019000487.
62. Nykolyszyn C, Granata A, Pagliardini T et al. Posttransplantation cyclophosphamide vs antithymocyte globulin as GVHD prophylaxis for mismatched unrelated

- hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55(2):349—355. DOI: 10.1038/s41409-019-0682-2.
63. Pagliardini T, Harbi S, Fürst S et al. Post-transplantation cyclophosphamide-based haploidentical versus Atg-based unrelated donor allogeneic stem cell transplantation for patients younger than 60 years with hematological malignancies: a single-center experience of 209 patients. *Bone Marrow Transplant* 2019; 54(7): 1067—1076. DOI: 10.1038/s41409-018-0387-y.
64. Floisand Y, Lundin KEA, Lazarevic V et al. Targeting integrin $\alpha 4\beta 7$ in steroid-refractory intestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23(1):172—175. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.10.009.
65. Wherry EJ, Teichgräber V, Becker TC et al. Lineage relationship and protective immunity of memory CD8 T cell subsets. *Nat Immunol* 2003; 4(3):225-34. DOI: 10.1038/ni889.
66. Graef P, Buchholz VR, Stemberger C et al. Serial transfer of single-cell-derived immunocompetence reveals stemness of CD8(+) central memory T cells. *Immunity* 2014; 41(1):116—26. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.05.018.
67. Gattinoni L. Memory T cells officially join the stem cell club. *Immunity* 2014; 41(1):7—9. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.07.003.
68. Huang W, Mo W, Jiang J et al. Donor allospecific CD44^{high} central memory T cells have decreased ability to mediate graft-vs.-host disease. *Front Immunol* 2019; 10:624. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00624.
69. Масчан М. А. Деплеция альфа/бета-Т-лимфоцитов — надежная платформа для развития трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичных доноров. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2015; 2(3):34—38.
70. Lamb LS Jr, Henslee-Downey PJ, Parrish RS et al. Increased frequency of TCR gamma delta + T cells in disease-free survivors following T cell-depleted, partially mismatched, related donor bone marrow transplantation for leukemia. *J Hematother* 1996; 5(5):503—509. DOI: 10.1089/scd.1.1996.5.503.
71. Saad A, Lamb L. Ex vivo T-cell depletion in allogeneic hematopoietic stem cell transplant: past, present and future. *Bone Marrow Transplant* 2017; 52(9): 1241—1248. DOI: 10.1038/bmt.2017.22.
72. Weinberg K, Blazar BR, Wagner JE et al. Factors affecting thymic function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2001; 97(5): 1458—1466. DOI: 10.1182/blood.v97.5.1458.
73. Jiménez M, Martínez C, Ercilla G et al. Clinical factors influencing T-cell receptor excision circle (TRECs) counts following allogeneic stem cell transplantation in adults. *Transpl Immunol* 2006; 16(1):52—59. DOI: 10.1016/j.trim.2006.02.006.
74. Castermans E, Hannon M, Dutrieux J et al. Thymic recovery after allogeneic hematopoietic cell transplantation with non-myeloablative conditioning is limited to patients younger than 60 years of age. *Haematologica* 2011; 96(2):298—306. DOI: 10.3324/haematol.2010.029702.

75. Chung B, Barbara-Burnham L, Barsky L, Weinberg K. Radiosensitivity of thymic interleukin-7 production and thymopoiesis after bone marrow transplantation. *Blood* 2001; 98(5):1601—1606. DOI: 10.1182/blood.v98.5.1601.
76. Fletcher AL, Lowen TE, Sakkal S et al. Ablation and regeneration of tolerance-inducing medullary thymic epithelial cells after cyclosporine, cyclophosphamide, and dexamethasone treatment. *J Immunol* 2009; 183(2):823—831. DOI: 10.4049/jimmunol.0900225.
77. MacVittie TJ, Bennett AW, Cohen MV et al. Immune cell reconstitution after exposure to potentially lethal doses of radiation in the nonhuman primate. *Health Phys* 2014; 106(1):84—96. DOI: 10.1097/HP.0b013e3182a2a9b2.
78. Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR et al. Distinctions between CD8+ and CD4+ T-cell regenerative pathways result in prolonged T-cell subset imbalance after intensive chemotherapy. *Blood* 1997; 89(10):3700—3707.
79. Turner BE, Collin M, Rice AM. Reduced intensity conditioning for hematopoietic stem cell transplantation: has it achieved all it set out to? *Cytotherapy* 2010; 12(4):440—454. DOI: 10.3109/14653241003709678.
80. Jiménez M, Ercilla G, Martínez C. Immune reconstitution after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens. *Leukemia* 2007; 21(8):1628—1637. DOI: 10.1038/sj.leu.2404681.
81. Jiménez M, Martínez C, Ercilla G et al. Reduced-intensity conditioning regimen preserves thymic function in the early period after hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol* 2005; 33(10):1240—1248. DOI: 10.1016/j.exphem.2005.06.016.
82. Bahceci E, Epperson D, Douek DC et al. Early reconstitution of the T-cell repertoire after non-myeloablative peripheral blood stem cell transplantation is from post-thymic T-cell expansion and is unaffected by graft-versus-host disease or mixed chimaerism. *Br J Haematol* 2003; 122(6):934—943. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04522.x.
83. Small TN, Papadopoulos EB, Boulad F et al. Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions. *Blood* 1999; 93(2):467—480.

Глава 4.

Роль регуляторных Т-лимфоцитов при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Регуляторные Т-лимфоциты: история открытия, функция

Регуляторные Т-лимфоциты (Трег), или Т-регуляторные клетки, супрессорные Т-клетки, Т-супрессоры, — это субпопуляция Т-лимфоцитов, обеспечивающая периферическую толерантность путем контроля силы и продолжительности иммунного ответа через регуляцию функции эффекторных Т-лимфоцитов [1].

Исследования Трег начались более полувека назад. Так, в 1971 г. была опубликована статья, где высказывалось предположение о существовании популяции супрессорных лимфоцитов тимического происхождения, способной снижать противoinфекционный ответ Т-лимфоцитов [2]. В течение последующих 10 лет было опубликовано множество работ, демонстрирующих подавляющие свойства супрессорных Т-клеток [3—5]. Однако в начале 1980-х годов, по мере развития молекулярной биологии, данные исследований в этой области были поставлены под сомнение, а термин «Т-супрессоры» почти исчез [6].

¹ Авторы выражают благодарность научному сотруднику сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и ТКМ Н. Н. Поповой за помощь в подготовке данной главы.

Вторую жизнь исследование этой популяции получило после публикации сообщений о развитии аутоиммунных осложнений у мышей, подвергшихся тимэктомии [7], а также о положительном влиянии на аутоиммунный процесс инфузии Т-лимфоцитов определенного фенотипа [8]. Таким образом, термин «супрессорные Т-клетки» трансформировался в Трег, благодаря их способности регулировать иммунный ответ.

Долгое время велся поиск мембранных маркеров для более точного выделения данной популяции клеток. И в начале 2000-х годов почти одновременно было обнаружено, что популяция Трег функционально зависит от интерлейкина-2 (ИЛ-2) и характеризуется высокой экспрессией рецепторов к этому цитокину — CD25 [9], а также то, что эта популяция клеток характеризуется наличием фактора транскрипции FOXP3 [10]. В дальнейшем была продемонстрирована отрицательная корреляция между экспрессией FOXP3 и экспрессией CD127 — рецептора к ИЛ-7 [11, 12]. Таким образом, на сегодняшний день в большинстве работ популяция Трег выделяется следующим образом: CD3+ CD4+ CD25^{high}+ (высокая экспрессия) CD127^{low}+ (низкая экспрессия).

Важно упомянуть, что существуют другие популяции лимфоцитов, обладающие регуляторным потенциалом. В частности, регуляторные В-лимфоциты [13], которые реализуют иммуносупрессивные свойства путем прямого межклеточного взаимодействия [14] и секреции ИЛ-10 [15]. А также популяция CD8+ Трег, действующая преимущественно за счет цитолиза (с участием перфорины, гранзимов А и В) [16]. Однако в этой статье речь пойдет о CD4+ Трег.

Как уже было упомянуто, доказана роль Трег в предотвращении аутоиммунных реакций [17], а также индукции толерантности к аллотрансплантату [18], снижении противоопухолевого иммунитета — описано увеличение количества Трег в микроокружении опухолей [19].

Регуляторные Т-лимфоциты: этапы созревания и классификация

По происхождению Трег делятся на тимические, или натуральные, и индуцированные, или периферические [20]. Важно отметить, что вторая группа клеток называется индуцированной, когда превращение в Трег произошло *in vitro*, и периферической, если превращение произошло *in vivo* [21].

Для понимания формирования тимических Трег необходимо обратиться к этапам дифференцировки Т-лимфоцитов. Развитие Т-лимфоцитов начинается в костном мозге, где из клетки-предшественницы лимфопоэза формируется ранний Т-клеточный предшественник,

который мигрирует в тимус, а именно в его корковое вещество [22]. Эти самые ранние тимоциты лишены экспрессии CD4 и CD8, а потому называются двойными негативными клетками. Около 5% из этих клеток приобретают $\gamma\delta$ -Т-клеточный рецептор ($\gamma\delta$ -ТКР) и без прохождения «положительного» и «отрицательного» отборов выходят из тимуса в периферическую кровь, где реализуют функцию первичного иммунного ответа [23].

Большинство же двойных негативных тимоцитов идут по пути формирования $\alpha\beta$ -ТКР — именно эти клетки в дальнейшем станут Т-хелперами (Тх) (CD4+) и цитотоксическими Т-лимфоцитами (Т-киллерами) (CD8+). На первом этапе двойные негативные тимоциты подвергаются перестройке $\alpha\beta$ -ТКР с образованием CD4+ CD8+ двойных позитивных тимоцитов.

Следующий этап называется «положительным отбором» или «селекцией». На этом этапе $\alpha\beta$ -ТКР двойных позитивных тимоцитов проверяется на способность связывания с молекулой главного комплекса гистосовместимости I (ГКГ-I) или II (ГКГ-II) класса — при этом один из рецепторов (CD4 или CD8) перестает экспрессироваться на мембране и формируются CD4+ или CD8+ одиночные позитивные тимоциты. Клетки, создавшие нефункциональный ТКР, подвергаются апоптозу.

Далее одиночные позитивные тимоциты мигрируют в мозговое вещество тимуса, где происходит этап «отрицательного отбора», при котором апоптозу подвергаются аутореактивные Т-лимфоциты — то есть тимоциты с высокой степенью аффинности ТКР к молекулам ГКГ [24]. Интересно, что часть таких тимоцитов не подвергается отрицательной селекции, а дифференцируется в Трег [25]. Важно отметить, что репертуар ТКР тимических Трег человека лишь на четверть перекрывается с репертуаром других, «нерегуляторных» CD4+ клеток [26].

Широко обсуждается вопрос, на каком этапе дифференцировки тимоцит приобретает приверженность к линии регуляторных Т-клеток [27]. Так, популяция, экспрессирующая CD25 и FOXP3, в основном представлена CD4+ одиночными позитивными тимоцитами [28] с малой долей CD8+одиночных позитивных [25, 29], двойных позитивных [30] и двойных негативных клеток [31].

Клетки, прошедшие все этапы, приобретают фенотип CD45RA+ CCR7+, выходят из тимуса в периферическую кровь, где именуется наивными Т-лимфоцитами (не тимоцитами) [32].

Периферические Трег формируются на периферии из наивных (нерегуляторных) CD4+ FOXP3– клеток под действием трансформирующего фактора роста- β (ТФР β) и ИЛ-2 [33]. Периферические Трег призваны регулировать иммунный ответ на «неаутоантигены» — например, антигены пищи, антигены микробиоты кишечника, антигены

плода [34, 35]. Подтверждает этот факт изменение репертуара ТКР Трег кишечника после антибиотикотерапии [36]. Однако важно отметить, что в кишечнике регулирующую функцию реализуют не только периферическими, но и тимическими Трег, что продемонстрировано в работе Zegarra-Ruiz et al. — антигены кишечной микробиоты представляются Т-клеткам в тимусе [37].

Стоит отметить, что, несмотря на принципиально разные источники происхождения, тимические и периферические (индуцированные) Трег нельзя различить по мембранным маркерам. На сегодняшний день дифференцировать одну популяцию от другой можно с помощью анализа эпигенетических структур, а именно локуса, кодирующего FOXP3 [20, 38]. Также разнится стабильность экспрессии FOXP3 — периферические (индуцированные) Трег при воспалении могут дифференцироваться в эффекторные клетки [39].

Как уже было отмечено ранее, репертуар ТКР различается между популяцией тимических Трег и «нерегуляторных» CD4+ клеток [26]. Учитывая формирование периферических Трег из «нерегуляторных» популяций Т-хелперов, по этому признаку также можно разделить подмножества — тимические и периферические (индуцированные) Трег: репертуар ТКР тимических Трег склонен к распознаванию ауто-антигенов, а ТКР периферических Трег нацелен в большей степени на распознавание чужеродных антигенов [40].

Также Трег можно классифицировать по степени зрелости (как и другие Т-клетки) на основании экспрессии CD45RA, CD62L и CCR7 (CD197). Таким образом, можно выделить наивные клетки, клетки центральной памяти, эффекторной памяти и эффекторные Трег [41]. Стоит отметить, что соотношение этих субпопуляций меняется с возрастом — в норме у молодых людей наивные Трег составляют около 30% [42], а в дальнейшем, в связи с инволюцией тимуса, уменьшается доля наивных Трег, уступая место Трег памяти [43].

Механизмы иммуносупрессии регуляторных Т-лимфоцитов

Механизмы, с помощью которых Трег подавляют иммунный ответ, чрезвычайно многообразны. По виду воздействия их можно разделить на 4 группы: цитоллиз, секреция ингибирующих цитокинов, влияние на дендритные клетки и нарушение метаболизма [1].

Долгое время считалось, что Трег не обладают цитолитической активностью, однако в исследовании 2006 г. было продемонстрировано, что они могут убивать В-клетки гранзим-В-зависимым и, частично,

перфоринзависимым образом [44]. В другой работе было показано, что путем цитоллиза Трег в микроокружении опухоли убивают цитотоксические Т-лимфоциты и НК-клетки, тем самым снижая противоопухолевый ответ [45].

В работе Дрокова и др. [46] было продемонстрировано, что у пациентов, перенесших трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), малое количество гранзим-В-позитивных Трег определяло высокую вероятность развития острой реакции «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ) — минимальное количество этих клеток определялось в день установления диагноза ОРТПХ. Напротив, вероятность ОРТПХ снижалась с ростом количества гранзим-В-позитивных Трег.

К ингибирующим цитокинам, продуцируемым Трег, относятся ИЛ-10, ТФРβ, ИЛ-35. Эти цитокины подавляют активацию и пролиферацию эффекторных Т- и В-лимфоцитов, а также могут индуцировать формирование периферических Трег и регуляторных В-лимфоцитов из нерегуляторных популяций [47, 48]. Иммуносупрессивные свойства ИЛ-10 продемонстрированы, например, на мышинных моделях воспалительных заболеваний кишечника [49], при подавлении аллергического воспаления при бронхиальной астме [50]. Роль как ИЛ-10, так и ТФРβ, изучена в подавлении противоопухолевого ответа в микроокружении опухолей [51].

Интересно, что ТФРβ реализует супрессивную функцию не только как секретируемый Трег цитокин, но и посредством межклеточного взаимодействия в форме, связанной с мембраной Трег [52]. Это продемонстрировано, например, на модели сахарного диабета 1-го типа, где за счет влияния ТФРβ, связанного с мембраной Трег, сдерживается инфильтрация CD8+ лимфоцитами островков Лангерганса, тем самым замедляется прогрессирование заболевания [53].

Дендритные клетки являются одной из популяций антигенпрезентирующих клеток организма. Они презентуют чужеродный антиген, связанный с молекулой ГКГ I или II типа, Т-клеткам, активируя их [54]. В связи с чем эффективное угнетение функции дендритных клеток позволяет регулировать иммунный ответ. Трег индуцируют формирование толерогенных дендритных клеток (вызывают анергию эффекторных Т-лимфоцитов, взаимодействующих с комплексом антиген—ГКГ, индуцируют формирование периферических Трег) или нарушают процесс представления антигена дендритной клеткой [55, 56].

Среди способов нарушения метаболизма можно выделить «обкрадывание» CD8+ лимфоцитов ИЛ-2 (за счет более высокой плотности рецептора к этому интерлейкину на поверхности Трег по сравнению с CD8+ клетками) [57].

Также к способам нарушения метаболизма можно отнести индукцию распада АТФ до аденозина с помощью ферментов на мембране Трег. Повышенная концентрация аденозина снижает пролиферативную активность Т-лимфоцитов, а также влияет на дендритные клетки, подавляя их антигенпрезентирующую способность [58].

Трег также могут нарушать поступление ионов кальция к эффекторным лимфоцитам, нарушая их активацию (так как не функционируют кальцийзависимые факторы транскрипции) [59].

Важно отметить, что Трег используют перечисленные супрессивные механизмы в комбинациях, а также то, что эти механизмы продолжают активно изучаться.

Роль регуляторных Т-лимфоцитов в развитии реакции «трансплантат против хозяина»

Несмотря на совершенствование алгоритмов подбора донора (сопоставление по человеческому лейкоцитарному антигену), а также профилактической терапии, РТПХ остается ведущей причиной худшей безрецидивной выживаемости и смертности после алло-ТГСК [60].

Различают 2 вида РТПХ: оРТПХ и хроническую РТПХ (хрРТПХ). ОРТПХ характеризуется отсутствием признаков хрРТПХ. ОРТПХ включает классическую оРТПХ (до 100-го дня) и постоянную, рецидивирующую или позднюю оРТПХ (после 100-го дня, часто после отмены иммуносупрессивной терапии или трансфузии лимфоцитов донора). ХрРТПХ включает классическую хрРТПХ (без признаков оРТПХ) и синдром перекреста (присутствуют признаки как оРТПХ, так и хрРТПХ) [61].

Патогенетически оРТПХ опосредована зрелыми эффекторными Т-клетками донора, которые активируются после встречи с аллоантигенами реципиента [62].

Патогенетические механизмы при хрРТПХ изучены не так хорошо, как при оРТПХ, в первую очередь из-за того, что до сих пор ни одна модель на животных не воспроизводит все особенности течения хрРТПХ у человека. Однако исследователям удалось выделить основные патогенетические моменты: нарушение механизмов толерантности, как центральной (повреждение тимуса кондиционированием и/или при оРТПХ с формированием Т-лимфоцитов, направленных против антигенов хозяина, что в свою очередь приводит к активации аллореактивных В-клеток), так и периферической (недостаточность Трег), а также образование фиброза в органах-мишенях [63]. Далее мы рассмотрим исследования, в которых изучалась роль Трег в патогенезе РТПХ.

На мышинных моделях было продемонстрировано, что начальная фаза хрРТПХ ассоциирована со значительным снижением количества Трег в периферической крови, а с течением времени и на фоне иммуносупрессивной терапии их количество увеличивается [64].

В другой работе, выполненной на людях, было показано, что соотношение Трег:Тх значимо ниже на 2-й неделе после алло-ТГСК у пациентов, у которых впоследствии развилась оРТПХ, в сравнении с пациентами, у которых в дальнейшем данного осложнения не было [65], в связи с чем сниженное количество Трег может рассматриваться как предиктор развития оРТПХ.

Также в исследовании Alho et al. [66] при анализе реконституции CD3+ клеток у 107 пациентов после алло-ТГСК было продемонстрировано, что количество CD3+ клеток восстанавливалось до нормального в течение 2 лет, однако важно отметить, что CD8+ Т-клетки восстанавливались быстрее и ни Трег, ни Тх не достигали нормального уровня в течение 2-летнего периода наблюдения. Также авторам удалось продемонстрировать, что у пациентов с хрРТПХ соотношение Трег:Тх и Трег:CD8+ Т-клеток значительно ниже, чем у пациентов без хрРТПХ.

Учитывая, что аллореактивные лимфоциты реализуют аллоиммунный ответ в тканях, интересно изучение регуляторных и эффекторных популяций не только крови, но и в органах-мишенях. Так, в работе Rieger et al. было изучено 95 биоптатов двенадцатиперстной и толстой кишки от 49 пациентов после алло-ТГСК [67]. При оРТПХ и хрРТПХ отмечалось увеличенное количество CD8+ клеток по сравнению со здоровыми образцами, что сопоставимо с работами других авторов [68, 69], но этот показатель также увеличен при дивертикулите и цитомегаловирусном колите, что не позволяет использовать его в качестве дифференциально диагностического маркера. Однако исследователям удалось выяснить, что при РТПХ соотношение FOXP3+/CD8+ соответствует здоровым образцам, в то время как при дивертикулите и цитомегаловирусном колите отмечалось увеличение этого соотношения вслед за экспансией CD8+ клеток. Авторы интерпретируют полученные данные так: РТПХ с поражением кишечника связана с недостаточной активацией Трег.

Другие работы сосредоточены на изучении клеточного состава трансплантата. 2 похожих исследования, проведенных примерно в одно время учеными из США [70] и Китая [71], показали, что количество Трег в трансплантате влияет на вероятность развития оРТПХ — содержание Трег = $10 \times 10^6/\text{кг}$ значимо снижает вероятность развития оРТПХ; у этих пациентов также наблюдается более быстрое восстановление показателей периферической крови после алло-ТГСК.

Интересно, что трансплантаты гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), мобилизованные с помощью плериксафора, содержат большее

количество Трег, чем при использовании гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) [72].

Роль регуляторных Т-лимфоцитов в приживлении трансплантата

Важно отметить, что регуляторный потенциал Трег настолько силен, что аллогенные ГСК могут выживать в организме необлученных мышей около 30 дней без дополнительной иммуносупрессии, локализуясь рядом с хозяйскими Трег в костномозговых нишах [73].

В ряде работ показано, что Трег способствуют приживлению ГСК. Например, в работе Hirata et al. [74] на мышинной модели исследовалась популяция Трег костномозговой ниши. Авторы продемонстрировали, что снижение количества хозяйских Трег костномозговой ниши приводит к значимому снижению донорского химеризма, причем степень снижения химеризма была выше через 24 недели после алло-ТГСК, чем через 9 недель, а трансфузия Трег костномозговой ниши увеличивала донорский химеризм в периферической крови. Данные наблюдения подтверждают способность Трег костномозговой ниши обеспечивать долговременную иммунную защиту ГСК.

В другой работе [75] на мышинных моделях было показано, что трансфузия Трег обеспечивает приживание аллогенных ГСК, а также то, что временное истощение НК-клеток приводит к приживлению ГСК без использования трансфузии Трег. Эти наблюдения позволили сделать вывод о том, что Трег облегчают приживание ГСК, в том числе за счет подавления функции НК-клеток. Интересно, что при восстановлении пула НК-клеток после истощения отторжения аллогенных ГСК не происходило, что объясняется способностью Трег индуцировать толерантность хозяйских НК-клеток к аллотрансплантату — НК-клетки реципиентов ГСК, получавших трансфузию Трег, изменили репертуар рецепторов.

Таким образом, популяция Трег очень важна для обеспечения приживания аллогенных ГСК.

Роль регуляторных Т-лимфоцитов в реализации реакции «трансплантат против опухоли»

Известно, что свойство Трег подавлять иммунный ответ способствует канцерогенезу — так, описано увеличение количества циркулирующих Трег у пациентов, страдающих онкологическими заболеваниями, по

сравнению со здоровыми людьми [76]. Более того, увеличение инфильтрирующих опухоль Трег ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и худшей выживаемостью больных [77, 78].

Важно отметить, что описано увеличение количества Трег в костном мозге и периферической крови больных острыми лейкозами [79, 80]. Однако на мышиных моделях было продемонстрировано, что трансфузии Тег, подавляя способность аллореактивных донорских Т-клеток индуцировать РТПХ, не снижают эффективность реакции «трансплантат против опухоли» (РТПО) [81, 82]. Также при применении трансфузии Трег у пациентов после алло-ТГСК не отмечено снижения активности РТПО [83–85] — подробнее об этих исследованиях см. в разделе, посвященном клиническому применению Трег для профилактики РТПХ.

Влияние иммуносупрессивных препаратов на регуляторные Т-лимфоциты

Учитывая важную роль Трег в патогенезе ауто- и аллоиммунных осложнений, очень важно понимание влияния на эти клетки различных иммуносупрессивных агентов.

Ингибиторы кальциневрина — это наиболее часто применяемые иммунодепрессанты в трансплантации ГСК и солидных органов. В исследованиях показано, что ингибиторы кальциневрина снижают количество и функциональную активность циркулирующих Трег [86], а на фоне отмены этих препаратов отмечается повышение Трег в крови [87]. Применение же этих препаратов в качестве профилактики развития РТПХ связано с их способностью угнетать активацию нерегуляторных Т-лимфоцитов (преимущественно Т-хелперов). Также это подтверждается тем, что смена иммуносупрессивной терапии с ингибиторов кальциневрина на антипролиферативное средство — микофенолата мофетил — ассоциирована с увеличением пула Трег [88], вероятно, за счет индукции превращения Тх в Трег [89, 90]. Однако есть работы, демонстрирующие, что микофенолата мофетил дозозависимо угнетает пролиферативную активность и жизнеспособность Трег [91].

Исследование немецкой группы [92] на мышиных моделях РТПХ демонстрирует, что трансфузия Трег совместно с применением циклоспорина увеличивает накопление Трег в местах воспаления, таких как легкие и печень, — это может быть полезным при терапии РТПХ с поражением этих органов.

Позитивным влиянием на Трег отличаются препараты из группы ингибиторов мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR). Они

способствуют экспансии и поддерживают функцию Трег как в исследованиях *ex vivo*, так и *in vivo* [93, 94], что делает перспективными схемы профилактики РТПХ на основе ингибиторов mTOR, а не ингибиторов кальциневрина.

Циклофосфамид все чаще применяется в качестве профилактики развития РТПХ. Механизм действия циклофосфамида основан на селективном разрушении быстро пролиферирующих Т-клеток [95], в то время как Трег «ускользают» от этого влияния за счет повышенной экспрессии фермента альдегиддегидрогеназы [96]. Интересно, что в модели ксенотрансплантации удаление Трег из трансплантата отменяло защитные эффекты циклофосфамида [96].

Кроличий анти timoцитарный иммуноглобулин приводит к деплеции циркулирующих Т-лимфоцитов, в том числе и Трег, однако последние восстанавливаются гораздо быстрее других популяций, что полезно для профилактики развития РТПХ [97]. Однако в исследованиях *in vitro* при инкубации мононуклеаров периферической крови с малой дозой кроличьего анти timoцитарного иммуноглобулина было отмечено увеличение количества Трег (путем преобразования CD4+ CD25– Т-клеток в CD4+ CD25+ Т-клетки), в то время как при инкубации с лошадиным анти timoцитарным иммуноглобулином количество Трег уменьшалось [98].

Глюкокортикоиды на сегодняшний день остаются препаратами первой линии в терапии как оРТПХ, так и хрРТПХ, поэтому важно их влияние на Трег. Изучение этого влияния проводилось у пациентов, получавших глюкокортикоиды по поводу аутоиммунных заболеваний. Было продемонстрировано, что при терапии преднизолоном в дозе 5 мг/сут и более отмечалось увеличение уровня Трег периферической крови в сравнении с уровнем до начала терапии, а также в сравнении с группой пациентов, не получавших глюкокортикоиды [99].

Напротив, при изучении Трег на фоне терапии метилпреднизолоном в дозе 250 мг/сут в течение 3 дней (в качестве терапии острого отторжения почечного трансплантата) не было зафиксировано количественного изменения популяции Трег, однако описаны качественные изменения — увеличение доли эффекторных Трег и уменьшение доли Трег центральной памяти [100].

Однако в уже упомянутом выше исследовании немецкой группы [92] на мышинных моделях РТПХ сочетание метилпреднизолонa и трансфузии Трег приводило к уменьшению рекрутирования Трег в очаги воспаления и быстрому ухудшению состояния некоторых животных.

Интересно влияние на Трег гипометилирующих препаратов, которые могут применяться в составе посттрансплантационного противо-

рецидивного воздействия. Азациитидин и децитабин индуцируют экспрессию FOXP3 в CD4+ CD25– Т-клетках как *in vitro*, так и *in vivo* [101]. В то время как на мышинных моделях было продемонстрировано, что Трег устойчивы к антипролиферативному действию гипометилирующих средств [102].

Положительным влиянием на Трег обладает вориностат — препарат из группы ингибиторов гистондеацетилаз. Вориностат увеличивает количество и функциональную активность Трег [103], демонстрируя эффективность в качестве профилактики РТПХ после алло-ТГСК [104].

Клиническое применение регуляторных Т-лимфоцитов в качестве профилактики реакции «трансплантат против хозяина»

Учитывая несомненную роль Трег в патогенезе РТПХ, в течение последних лет очень активно изучается вопрос применения Трег в качестве профилактики и терапии этого осложнения.

Исследования, проведенные на мышинных моделях, демонстрировали способность инфузии Трег сдерживать развитие РТПХ, индуцированной инфузией Т-лимфоцитов, или облегчать ее симптомы в зависимости от времени введения и дозы клеток [105].

Примером применения Трег с целью профилактики РТПХ может служить исследование под названием Огса-Т [83]: в день 0 пациентам выполнялась трансфузия селектированных CD34+ клеток в сочетании с Трег — целевая доза последних 3×10^6 /кг, а через 2 дня — трансфузия CD3+ клеток в дозе 3×10^6 /кг. В исследование было включено 34 пациента, которым была выполнена алло-ТГСК от полностью совместимых доноров (25 — от родственного полностью совместимого донора, 6 — от неродственного). Посттрансплантационная иммуносупрессия включала такролимус у 8 пациентов и сиролимус у 6. Контрольная группа (алло-ТГСК в сочетании с метотрексатом и такролимусом) включала 138 пациентов после алло-ТГСК от родственного (79 больных) и неродственного (59 больных) полностью совместимого донора. Было продемонстрировано более быстрое приживление трансплантата в исследуемой группе по сравнению с контрольной, а также более низкая частота развития как оРТПХ 2—4-й степени (0% против 33%), так и хрРТПХ (4% против 44%).

Интересным представляется тот факт, что применение Трег эффективно для профилактики РТПХ и при выполнении алло-ТГСК от гаплотидентичных доноров (гапло-ТГСК) даже без сопроводительной иммуносупрессивной терапии.

Так, в исследовании Di Ianni et al. [84] 28 пациентам с гемобластозами была выполнена алло-ТГСК от гаплоидентичных доноров по следующей схеме: селектированные Трег в —4-й день, а затем в день 0 селектированные CD34+ клетки в сочетании с инфузией Т-лимфоцитов, профилактика РТПХ не проводилась. Приживление трансплантата было отмечено у 26 из 28 больных, среди этих 26 пациентов только у 2 развилась оРТПХ и ни у одного не развилась хрРТПХ.

В работе итальянских исследователей [85] 50 пациентам выполнялась гапло-ТГСК по поводу ОМЛ по следующей схеме: в —4-й день — Трег в дозе $2 \times 10^6/\text{кг}$, в —1-й день — CD3+ клетки в дозе $1 \times 10^6/\text{кг}$ и в день 0 — селектированные CD34+ клетки (медиана составила $10,7 \pm 3,4 \times 10^6/\text{кг}$) без последующей иммуносупрессивной терапии. У 15 пациентов развилась оРТПХ 2-й степени и выше, хрРТПХ среднетяжелой/тяжелой степени развилась лишь у 1 пациента из 50, а двухлетняя выживаемость без хрРТПХ и без прогрессии основного заболевания составила 75%.

Важно отметить, что во всех приведенных в этой части статьи исследованиях [83—85] не было отмечено отрицательно влияния инфузии Трег на РТПО, а также на вероятность развития инфекционных осложнений.

Клиническое применение регуляторных Т-лимфоцитов для лечения реакции «трансплантат против хозяина»

Применение Трег в качестве терапии оРТПХ ярко продемонстрировано на мышиных моделях. Например, в работе Riegel et al. [106] показано, что Трег, мигрируя в лимфоидные органы, а также в органы-мишени оРТПХ (преимущественно в ЖКТ), подавляют пролиферацию Т-клеток, тем самым уменьшают клинические и гистологические признаки оРТПХ и значительно повышают выживаемость.

Крупных исследований применения Трег в терапии оРТПХ человека пока нет, но есть сообщения об эффективности такой терапии. Например, польские авторы сообщают, что инфузия Трег пациенту, страдающему оРТПХ 4-й степени, позволила лишь временно улучшить состояние, однако на самый длительный срок среди всех применяемых иммунодепрессантов [107].

Также трансфузии Трег эффективны в качестве терапии хрРТПХ. Например, при применении трансфузии Трег у пациентов, страдающих хрРТПХ, было отмечено улучшение и стабилизация процесса [108]. В другой работе [109] пациентам с хрРТПХ переливались Трег,

подвергнутые *ex vivo* экспансии, и также отмечалась стабилизация процесса или клиническое улучшение.

На сегодняшний день на сайте clinicaltrials.gov более 40 исследований, посвященных роли Трег в качестве профилактики и терапии как оРТПХ [110], так и хрРТПХ [111, 112].

Интересно, что источником Трег в ряде этих исследований выступает «третий» донор [113] — использование «сторонних» Трег безопасно (не увеличивает риски РТПХ) и эффективно в контроле над развитием РТПХ [114].

Модификация регуляторных Т-лимфоцитов

Ограничивающим фактором применения Трег является небольшое количество их в периферической крови — пул Трег в периферической крови здоровых людей составляет всего 5—10% от CD4⁺ Т-клеток [115], в связи с чем актуальным представляется применение как *in vivo*, так и *in vitro* экспансии Трег.

Для экспансии Трег *in vivo* можно применять ИЛ-2 — данный цитокин крайне важен для развития, пролиферации и активности Трег [116]. Этот подход демонстрирует эффективность в терапии хрРТПХ. Так, например, ученые из Кореи, применяя низкие дозы ИЛ-2 в качестве терапии хрРТПХ, выявили увеличение количества Трег в периферической крови пациента, повышение соотношения Трег:Тх 17-го типа, а также умеренное клиническое улучшение. Исследователи из США продемонстрировали, что 8-недельная терапия низкими дозами ИЛ-2 вызывала усиление пролиферации Трег, а также повышение их устойчивости к апоптозу, при этом низкие дозы ИЛ-2 оказывали минимальное влияние на Т-конвенциональные клетки [117].

Интересное исследование Kennedy-Nasser et al. [118] было посвящено использованию ультранизких доз ИЛ-2 (100 000—200 000 МЕ/м² 3 раза в неделю), начиная с 30-го дня и до 6—12 недель после алло-ТГСК, с целью профилактики оРТПХ. В исследование было включено 16 детей, перенесших алло-ТГСК от родственных (12 человек) и неродственных (4 человека) доноров. Количество Трег в периферической крови на фоне терапии увеличились в среднем с 4,8% до 11,1%, ни у одного пациента, получавшего терапию, не развилась оРТПХ 2—4-й степени по сравнению с 4 из 33 (12%) в группе сравнения.

С целью размножения Трег *in vitro* применяется ИЛ-2, рапамицин (ингибитор mTOR), а также шарики, покрытые антителами к CD3 и CD28 (имитация антигенпрезентирующих клеток) [119, 120]. Размноженные таким способом Трег демонстрируют клиническую безопасность и эффективность [121].

Также в лабораторных условиях можно индуцировать превращение нерегуляторных Т-клеток в индуцированные Трег, однако данный подход ограничивается нестабильностью (потеря FOXP3) и пластичностью (приобретение фенотипа, подобного Тх 1, 2 и 17-го типов и соответствующих свойств) полученных индуцированных Трег [20], в связи с чем ведутся исследования, направленные на стабилизацию FOXP3 [122].

Желание получить максимальный регулирующий эффект от Трег привело к созданию и использованию антигенспецифических Трег, эффективность которых выше, чем поликлональных, что продемонстрировано на моделях сахарного диабета 1-го типа [123], аутоиммунного заболевания ЦНС [124], а также на моделях аллогенной трансплантации [125—127].

Например, в исследовании [125] на мышинной модели экспансия Трег донора проводилась в присутствии антигенпрезентирующих клеток реципиента, тем самым способствуя формированию Трег, специфичных к антигенам реципиента, способных к контролю над РТПХ. Напротив, в другой работе [127] аллоантигенспецифические Трег способствовали подавлению отторжения кожного трансплантата.

Однако размножение антигенспецифических Трег ограничено ввиду низкого количества предшественников. Найдено 3 пути решения указанной проблемы [128]: 2 из них основаны на перенаправлении поликлональных Трег путем формирования искусственного рецептора — химерного антигенного рецептора (CAR) [129, 130] или сконструированного Т-клеточного рецептора (ТКР) [131, 132], а 3-й путь основан на превращении антигенспецифических Т-лимфоцитов в Трег путем индукции FOXP3 [133].

Пока в области алло-ТГСК нашли применение CAR-Трег. В работе MacDonald et al. [134] на модели ксеногенной трансплантации продемонстрировано, что Трег, сконструированные с помощью CAR, нацеленного на человеческий лейкоцитарный антиген-A2 (обычно не совпадающий при алло-ТГСК), индуцируют аллоантигенспецифическую супрессию, предотвращая РТПХ. Однако не вызывает сомнений, что 2 других метода формирования антигенспецифических Трег тоже займут достойное место в профилактике и терапии осложнений алло-ТГСК.

Выводы

Трег — уникальная популяция лимфоцитов, обеспечивающая периферическую толерантность. Вероятно, предстоит еще много открытий в

области механизмов, с помощью которых Трег реализуют свои функции. Однако на сегодняшний день терапия с использованием Трег или направленная на них уже занимает весомые позиции в практике врачей по всему миру.

Трег являются перспективным методом профилактики и лечения РТПХ, который позволяет контролировать это тяжелое аллоиммунное осложнение без потери РТПО. Этот метод ограничивается финансовой составляющей, а также малым содержанием популяции Трег в периферической крови, что требует применения экспансии клеток или их модификации. Дальнейшие исследования в этой области смогут улучшить исходы алло-ТГСК.

Литература

1. Vignali DAA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(7):523. DOI: 10.1038/NRI2343.
2. Gershon RK, Kondo K. Infectious immunological tolerance. *Immunology* 1971; 21(6):903—914.
3. Gershon RK, Kondo K. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 1970; 18(5):723—737.
4. Katz DH, Benacerraf B. The regulatory influence of activated T cells on B cell responses to antigen. *Adv Immunol* 1972; 15:1—94. DOI: 10.1016/S0065-2776(08)60683-5.
5. Baker PJ, Stashak PW, Amsbaugh DF, Prescott B. Regulation of the antibody response to type III pneumococcal polysaccharide. *J Immunol* 1974; 112: 404—409.
6. Germain RN. Special regulatory T-cell review: A rose by any other name: from suppressor T cells to Tregs, approbation to unbridled enthusiasm. *Immunology* 2008; 123(1):20—27. DOI: 10.1111/J.1365-2567.2007.02779.X.
7. Nishizuka Y. A novel experimental system of organ-localized autoimmune diseases in the mouse. *Acta Pathol Jpn* 1982; 32(Suppl 1):211—222.
8. Powrie F, Leach MW, Mauze S et al. Phenotypically distinct subsets of CD4+ T cells induce or protect from chronic intestinal inflammation in C. B-17 scid mice. *Int Immunol* 1993; 5(11):1461—1471. DOI: 10.1093/INTIMM/5.11.1461.
9. Almeida ARM, Legrand N, Papiernik M et al. Homeostasis of peripheral CD4+ T cells: IL-2R alpha and IL-2 shape a population of regulatory cells that controls CD4+ T cell numbers. *J Immunol* 2002; 169(9):4850—4860. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.169.9.4850.
10. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299(5609):981—985. DOI: 10.1126/SCIENCE.1079490.
11. Seddiki N, Santner-Nanan B, Martinson J et al. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J Exp Med* 2006; 203(7):1693—1700. DOI: 10.1084/JEM.20060468.

12. Liu W, Putnam AL, Xu-yu Z et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J Exp Med* 2006; 203(7):1701—1711. DOI: 10.1084/JEM.20060772.
13. Kalampokis I, Yoshizaki A, Tedder TF. IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells) in autoimmune disease. *Arthritis Res Ther* 2013; 15(Suppl 1):S1. DOI: 10.1186/AR3907.
14. Khoder A, Sarvaria A, Alsuliman A et al. Regulatory B cells are enriched within the IgM memory and transitional subsets in healthy donors but are deficient in chronic GVHD. *Blood* 2014; 124(13):2034—2045. DOI: 10.1182/BLOOD-2014-04-571125.
15. Rowe V, Banovic T, MacDonald KP et al. Host B cells produce IL-10 following TBI and attenuate acute GVHD after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2006; 108(7):2485—2492. DOI: 10.1182/BLOOD-2006-04-016063.
16. Mishra S. CD8+ regulatory T cell — a mystery to be revealed. *Front Immunol* 2021; 12:3374. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.708874/BIBTEX.
17. Takahashi T, Sakaguchi S. Naturally arising CD25+CD4+ regulatory T cells in maintaining immunologic self-tolerance and preventing autoimmune disease. *Curr Mol Med* 2003; 3(8):693—706. DOI: 10.2174/1566524033479429.
18. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J et al. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev* 2001; 182: 18—32. DOI: 10.1034/J.1600-065X.2001.1820102.X.
19. Saleh R, Elkord E. FoxP3 + T regulatory cells in cancer: Prognostic biomarkers and therapeutic targets. *Cancer Lett* 2020; 490:174—85. DOI: 10.1016/J.CANLET.2020.07.022.
20. Dominguez-Villar M, Hafler DA. Regulatory T cells in autoimmune disease. *Nat Immunol* 2018; 19(7):665—673. DOI: 10.1038/S41590-018-0120-4.
21. Haribhai D, Williams JB, Jia S et al. A requisite role for induced regulatory T cells in tolerance based on expanding antigen receptor diversity. *Immunity* 2011; 35(1):109—122. DOI: 10.1016/J.IMMUNI.2011.03.029.
22. Schwarz BA, Bhandoola A. Trafficking from the bone marrow to the thymus: a prerequisite for thymopoiesis. *Immunol Rev* 2006; 209(1):47—57. DOI: 10.1111/J.0105-2896.2006.00350.X.
23. Shah DK, Zúñiga-Pflücker JC. An overview of the intrathymic intricacies of T cell development. *J Immunol* 2014; 192(9):4017—4023. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1302259.
24. Baldwin TA, Hogquist KA, Jameson SC. The fourth way? Harnessing aggressive tendencies in the thymus. *J Immunol* 2004; 173(11):6515—6520. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.173.11.6515.
25. Lio CWJ, Hsieh CS. A two-step process for thymic regulatory T cell development. *Immunity* 2008; 28(1):100—111. DOI: 10.1016/J.IMMUNI.2007.11.021.
26. Fazilleau N, Bachelez H, Gougeon ML et al. Cutting edge: size and diversity of CD4+CD25high Foxp3+ regulatory T cell repertoire in humans: evidence for similarities and partial overlapping with CD4+CD25- T cells. *J Immunol* 2007; 179(6):3412—3416. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.179.6.3412.

27. Caramalho Í, Nunes-Cabaço H, Foxall RB et al. Regulatory T-Cell development in the human thymus. *Front Immunol* 2015; 6:395. DOI: 10.3389/FIMMU.2015.00395.
28. Darrasse-Jèze G, Marodon G, Salomon BL et al. Ontogeny of CD4+CD25+ regulatory/suppressor T cells in human fetuses. *Blood* 2005; 105(12):4715—4721. DOI: 10.1182/BLOOD-2004-10-4051.
29. Cupedo T, Nagasawa M, Weijer K et al. Development and activation of regulatory T cells in the human fetus. *Eur J Immunol* 2005; 35(2):383—390. DOI: 10.1002/EJI.200425763.
30. Nunes-Cabaço H, Caramalho Í, Sepúlveda N et al. Differentiation of human thymic regulatory T cells at the double positive stage. *Eur J Immunol* 2011; 41(12):3604—3614. DOI: 10.1002/EJI.201141614.
31. Tuovinen H, Kekäläinen E, Rossi LH et al. Cutting edge: human CD4-CD8-thymocytes express FOXP3 in the absence of a TCR. *J Immunol* 2008; 180(6): 3651—3654. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.180.6.3651.
32. Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity* 2018; 48(2):202—213. DOI: 10.1016/J.IMMUNI.2018.01.007.
33. Chen WJ, Jin W, Hardegen N et al. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003; 198(12):1875—1886. DOI: 10.1084/JEM.20030152.
34. Kretschmer K, Apostolou I, Hawiger D et al. Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. *Nat Immunol* 2005; 6(12):1219—1227. DOI: 10.1038/NII1265.
35. Samstein RM, Josefowicz SZ, Arvey A et al. Extrathymic generation of regulatory T cells in placental mammals mitigates maternal-fetal conflict. *Cell* 2012; 150(1):29—38. DOI: 10.1016/J.CELL.2012.05.031.
36. Cebula A, Seweryn M, Rempala GA et al. Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota. *Nature* 2013; 497(7448):258—262. DOI: 10.1038/NATURE12079.
37. Zegarra-Ruiz DF, Kim DV, Norwood K et al. Thymic development of gut-microbiota-specific T cells. *Nature* 2021; 594(7863):413—417. DOI: 10.1038/S41586-021-03531-1.
38. Zheng Y, Josefowicz S, Chaudhry A et al. Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate. *Nature* 2010; 463(7282): 808—812. DOI: 10.1038/NATURE08750.
39. Komatsu N, Okamoto K, Sawa S et al. Pathogenic conversion of Foxp3+ T cells into TH17 cells in autoimmune arthritis. *Nat Med* 2014; 20(1):62—68. DOI: 10.1038/NM.3432.
40. Wyss L, Stadinski BD, King CG et al. Affinity for self antigen selects Treg cells with distinct functional properties. *Nat Immunol* 2016; 17(9):1093—1101. DOI: 10.1038/NI.3522.
41. Thome JJC, Yudanin N, Ohmura Y et al. Spatial map of human T cell compartmentalization and maintenance over decades of life. *Cell* 2014; 159(4):814—828. DOI: 10.1016/J.CELL.2014.10.026.

42. Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 2009; 30(6):899—911. DOI: 10.1016/J.IMMUNI.2009.03.019.
43. Seddiki N, Santner-Nanan B, Tangye SG et al. Persistence of naive CD45RA⁺ regulatory T cells in adult life. *Blood* 2006; 107(7):2830—2838. DOI: 10.1182/BLOOD-2005-06-2403.
44. Zhao DM, Thornton AM, DiPaolo RJ et al. Activated CD4⁺CD25⁺ T cells selectively kill B lymphocytes. *Blood* 2006; 107(10):3925—3932. DOI: 10.1182/BLOOD-2005-11-4502.
45. Cao X, Cai SF, Fehniger TA et al. Granzyme B and perforin are important for regulatory T cell-mediated suppression of tumor clearance. *Immunity* 2007; 27(4):635—646. DOI: 10.1016/J.IMMUNI.2007.08.014.
46. Drovok MY, Parovichnikova EN, Kuzmina LA et al. Role of granzyme B in T regulatory cells in patients after allogeneic stem cell transplantation. *Gematol Transfuziol* 2016; 61(1):32—37. (In Russ.). DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-1-32-37.
47. Zhu Z, Zhang Y, Ye J et al. IL-35 promoted STAT3 phosphorylation and IL-10 production in B cells, but its production was reduced in patients with coronary artery diseases. *Hum Immunol* 2018; 79(12):869—875. DOI: 10.1016/J.HUMIMM.2018.10.009.
48. Tsuchida Y, Sumitomo S, Ishigaki K et al. TGF- β 3 inhibits antibody production by human B cells. *PLoS One* 2017; 12(1):e0169646. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0169646.
49. Asseman C, Mauze S, Leach MW et al. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med* 1999; 190(7):995—1003. DOI: 10.1084/JEM.190.7.995.
50. Hawrylowicz CM, O'Garra A. Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(4):271—283. DOI: 10.1038/NRI1589.
51. Loser K, Apelt J, Voskort M et al. IL-10 controls ultraviolet-induced carcinogenesis in mice. *J Immunol* 2007; 179(1):365—371. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.179.1.365.
52. Nakamura K, Kitani A, Strober W. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta. *J Exp Med* 2001; 194(5):629—644. DOI: 10.1084/JEM.194.5.629.
53. Green EA, Gorelik L, McGregor CM et al. CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells control anti-islet CD8⁺ T cells through TGF- β -TGF- β receptor interactions in type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(19):10878—10883. DOI: 10.1073/PNAS.1834400100.
54. Mann ER, Li X. Intestinal antigen-presenting cells in mucosal immune homeostasis: crosstalk between dendritic cells, macrophages and B-cells. *World J Gastroenterol* 2014; 20(29):9653—9664. DOI: 10.3748/WJG.V20.I29.9653.
55. Akkaya B, Akkaya M, Oya Y et al. Tregs orchestrate antigen specific suppression via stripping cognate peptide-MHCII from the DC surface. *J Immunol* 2018; 200(Suppl 1):47.20.

56. Akkaya B, Oya Y, Akkaya M et al. Regulatory T cells mediate specific suppression by depleting peptide-MHC class II from dendritic cells. *Nat Immunol* 2019; 20(2):218—231. DOI: 10.1038/S41590-018-0280-2.
57. Chinen T, Kannan AK, Levine AG et al. An essential role for the IL-2 receptor in T reg cell function. *Nat Immunol* 2016; 17(11):1322—1333. DOI: 10.1038/NI.3540.
58. Ernst PB, Garrison JC, Thompson LF. Much ado about adenosine: adenosine synthesis and function in regulatory T cell biology. *J Immunol* 2010; 185(4): 1993—1998. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1000108.
59. Schwarz A, Schumacher M, Pfaff D et al. Fine-tuning of regulatory T cell function: the role of calcium signals and naive regulatory T cells for regulatory T cell deficiency in multiple sclerosis. *J Immunol* 2013; 190(10):4965—4970. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1203224.
60. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P et al. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009; 373(9674):1550—1561. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3.
61. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. The 2014 diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(3):389—401.e1. DOI: 10.1016/J.BBMT. 2014.12.001.
62. Zeiser R, Blazar BR. Acute graft-versus-host disease — biologic process, prevention, and therapy. *N Engl J Med* 2017; 377(22):2167—2169. DOI: 10.1056/NEJMRA1609337.
63. Cooke KR, Luznik L, Sarantopoulos S et al. The biology of chronic graft-versus-host disease: A task force report from the National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23(2): 211—234. DOI: 10.1016/J.BBMT.2016.09.023.
64. Schneider M, Munder M, Karakhanova S et al. The initial phase of graft-versus-host disease is associated with a decrease of CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral blood of patients after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Lab Haematol* 2006; 28(6):382—390. DOI: 10.1111/J.1365-2257.2006.00825.X.
65. Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K et al. Frequency of CD4(+)FOXP3(+) regulatory T-cells at early stages after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic SCT predicts the incidence of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48(6): 859—864. DOI: 10.1038/BMT.2012.232.
66. Alho AC, Kim HT, Chammas MJ et al. Unbalanced recovery of regulatory and effector T cells after allogeneic stem cell transplantation contributes to chronic GVHD. *Blood* 2016; 127(5):646—657. DOI: 10.1182/BLOOD-2015-10-672345.
67. Rieger K, Loddenkemper C, Maul J et al. Mucosal FOXP3+ regulatory T cells are numerically deficient in acute and chronic GvHD. *Blood* 2006; 107(4): 1717—1723. DOI: 10.1182/BLOOD-2005-06-2529.
68. Weisdorf SA, Roy J, Snover D et al. Inflammatory cells in graft-versus-host disease on the rectum: immunopathologic analysis. *Bone Marrow Transplant* 1991; 7(4):297—301.

69. Forbes GM, Erber WN, Herrmann RP et al. Immunohistochemical changes in sigmoid colon after allogeneic and autologous bone marrow transplantation. *J Clin Pathol* 1995; 48(4):308—313. DOI: 10.1136/JCP.48.4.308.
70. Rezvani K, Mielke S, Ahmadzadeh M et al. High donor FOXP3-positive regulatory T-cell (Treg) content is associated with a low risk of GVHD following HLA-matched allogeneic SCT. *Blood* 2006; 108(4):1291—1297. DOI: 10.1182/BLOOD-2006-02-003996.
71. Yang K, Fan ZP, Liu QF, Zhang Y. Effect of donor CD4+CD25+ regulatory T cells on hematopoietic and immune reconstitution, GVHD and disease-free survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2008; 28(4):537—541.
72. Le Texier L, Lineburg KE, Cao B et al. Autophagy-dependent regulatory T cells are critical for the control of graft-versus-host disease. *JCI insight* 2016; 1(15): e86850. DOI: 10.1172/JCI.INSIGHT.86850.
73. Fujisaki J, Wu J, Carlson AL et al. In vivo imaging of Treg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. *Nature* 2011; 474(7350): 216—220. DOI: 10.1038/NATURE10160.
74. Hirata Y, Furuhashi K, Ishii H et al. CD150high bone marrow Tregs maintain hematopoietic stem cell quiescence and immune privilege via adenosine. *Cell Stem Cell* 2018; 22(3):445—453. DOI: 10.1016/J.STEM.2018.01.017.
75. Mahr B, Pilat N, Maschke S et al. Regulatory T cells promote natural killer cell education in mixed chimeras. *Am J Transplant* 2017; 17(12):3049—3059. DOI: 10.1111/AJT.14342.
76. Kotsakis A, Koinis F, Katsarou A et al. Prognostic value of circulating regulatory T cell subsets in untreated non-small cell lung cancer patients. *Sci Rep* 2016; 6:39247. DOI: 10.1038/SREP39247.
77. Sasidharan Nair V, Elkord E. Immune checkpoint inhibitors in cancer therapy: a focus on T-regulatory cells. *Immunol Cell Biol.* 2018;96(1):21—33. DOI: 10.1111/IMCB.1003.
78. Shang B, Liu Y, Jiang SJ et al. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2015; 5:15179. DOI: 10.1038/SREP15179.
79. Idris SZ, Hassan N, Lee LJ et al. Increased regulatory T cells in acute lymphoblastic leukaemia patients. *Hematology* 2016; 21(4):206—212. DOI: 10.1080/10245332.2015.1101965.
80. Wan Y, Zhang C, Xu Y et al. Hyperfunction of CD4 CD25 regulatory T cells in de novo acute myeloid leukemia. *BMC Cancer* 2020; 20(1):472. DOI: 10.1186/S12885-020-06961-8.
81. Edinger M, Hoffmann P, Ermann J et al. CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Nat Med* 2003; 9(9):1144—1150. DOI: 10.1038/NM915.
82. Jones SC, Murphy GF, Korngold R. Post-hematopoietic cell transplantation control of graft-versus-host disease by donor CD425 T cells to allow an effective graft-versus-leukemia response. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9(4): 243—256. DOI: 10.1053/BBMT.2003.50027.

83. Meyer EH, Hoeg R, Moroz A et al. Orca-T, a precision Treg-engineered donor product, in myeloablative HLA-matched transplantation prevents acute GVHD with less immunosuppression in an early multicenter experience. *Transplant Cell Ther* 2021; 27(3):S84—85. DOI: 10.1016/S2666-6367(21)00114-7.
84. Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A et al. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood* 2011; 117(14):3921—3928. DOI: 10.1182/BLOOD-2010-10-311894.
85. Pierini A, Ruggeri L, Carotti A et al. Haploidentical age-adapted myeloablative transplant and regulatory and effector T cells for acute myeloid leukemia. *Blood Adv* 2021; 5(5):1199—1208. DOI: 10.1182/BLOODADVANCES.2020003739.
86. Segundo DS, Ruiz JC, Izquierdo M et al. Calcineurin inhibitors, but not rapamycin, reduce percentages of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in renal transplant recipients. *Transplantation* 2006; 82(4):550—557. DOI: 10.1097/01.TP.0000229473.95202.50.
87. Pascual J, Bloom D, Torrealba J et al. Calcineurin inhibitor withdrawal after renal transplantation with alemtuzumab: clinical outcomes and effect on T-regulatory cells. *Am J Transplant* 2008; 8(7):1529—1536. DOI: 10.1111/J.1600-6143.2008.02260.X.
88. Demirkiran A, Sewgobind VDKD, Van Der Weijde J et al. Conversion from calcineurin inhibitor to mycophenolate mofetil-based immunosuppression changes the frequency and phenotype of CD4+FOXP3+ regulatory T cells. *Transplantation* 2009; 87(7):1062—1068. DOI: 10.1097/TP.0B013E31819D2032.
89. Lagaraine C, Lemoine R, Baron C et al. Induction of human CD4+ regulatory T cells by mycophenolic acid-treated dendritic cells. *J Leukoc Biol* 2008; 84(4):1057—1064. DOI: 10.1189/JLB.1007716.
90. He X, Smeets RL, Koenen HJPM et al. Mycophenolic acid-mediated suppression of human CD4+ T cells: more than mere guanine nucleotide deprivation. *Am J Transplant* 2011; 11(3):439—449. DOI: 10.1111/J.1600-6143.2010.03413.X.
91. Scottà C, Fanelli G, Hoong SJ et al. Impact of immunosuppressive drugs on the therapeutic efficacy of ex vivo expanded human regulatory T cells. *Haematologica* 2016; 101(1):91—100. DOI: 10.3324/HAEMATOL.2015.128934.
92. Landwehr-Kenzel S, Zobel A, Schmitt-Knosalla I et al. Cyclosporine A but not corticosteroids support efficacy of ex vivo expanded, adoptively transferred human Tregs in GvHD. *Front Immunol* 2021; 12:3840. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.716629/BIBTEX.
93. Hippen KL, Merkel SC, Schirm DK et al. Generation and large-scale expansion of human inducible regulatory T cells that suppress graft-versus-host disease. *Am J Transplant* 2011; 11(6):1148—1157. DOI: 10.1111/J.1600-6143.2011.03558.X.
94. Zhang P, Tey SK, Koyama M et al. Induced regulatory T cells promote tolerance when stabilized by rapamycin and IL-2 in vivo. *J Immunol* 2013; 191(10):5291—5303. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1301181.
95. Mayumi H, Umesue M, Nomoto K. Cyclophosphamide-induced immunological tolerance: an overview. *Immunobiology* 1996; 195(2):129—139. DOI: 10.1016/S0171-2985(96)80033-7.

96. Kanakry CG, Ganguly S, Zahurak M et al. Aldehyde dehydrogenase expression drives human regulatory T cell resistance to posttransplantation cyclophosphamide. *Sci Transl Med* 2013; 5(211):211ra157. DOI: 10.1126/SCITRANSLMED.3006960.
97. Gurkan S, Luan Y, Dhillon N et al. Immune reconstitution following rabbit antithymocyte globulin. *Am J Transplant* 2010; 10(9):2132–2141. DOI: 10.1111/J.1600-6143.2010.03210.X.
98. Feng X, Kajigaya S, Solomou EE et al. Rabbit ATG but not horse ATG promotes expansion of functional CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ regulatory T cells in vitro. *Blood* 2008; 111(7):3675–3683. DOI: 10.1182/BLOOD-2008-01-130146.
99. Suárez A, López P, Gómez J et al. Enrichment of CD4⁺ CD25^{high} T cell population in patients with systemic lupus erythematosus treated with glucocorticoids. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(11):1512–1517. DOI: 10.1136/ARD.2005.049924.
100. Seissler N, Schmitt E, Hug F et al. Methylprednisolone treatment increases the proportion of the highly suppressive HLA-DR(+)-Treg-cells in transplanted patients. *Transpl Immunol* 2012; 27(4):157–161. DOI: 10.1016/J.TRIM.2012.09.003.
101. Choi J, Ritchey J, Prior JL et al. In vivo administration of hypomethylating agents mitigate graft-versus-host disease without sacrificing graft-versus-leukemia. *Blood* 2010; 116(1):129–139. DOI: 10.1182/BLOOD-2009-12-257253.
102. Cooper ML, Choi J, Karpova D et al. Azacitidine mitigates graft-versus-host disease via differential effects on the proliferation of T effectors and natural regulatory T cells in vivo. *J Immunol* 2017; 198(9):3746–3754. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1502399.
103. Tao R, De Zoeten EF, Özkaynak E et al. Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells. *Nat Med* 2007; 13(11):1299–1307. DOI: 10.1038/NM1652.
104. Choi SW, Gatz E, Hou G et al. Histone deacetylase inhibition regulates inflammation and enhances Tregs after allogeneic hematopoietic cell transplantation in humans. *Blood* 2015; 125(5):815–819. DOI: 10.1182/BLOOD-2014-10-605238.
105. Nguyen VH, Zeiser R, DaSilva DL et al. In vivo dynamics of regulatory T-cell trafficking and survival predict effective strategies to control graft-versus-host disease following allogeneic transplantation. *Blood* 2007; 109(6):2649–2656. DOI: 10.1182/BLOOD-2006-08-044529.
106. Riegel C, Boeld TJ, Doser K et al. Efficient treatment of murine acute GvHD by in vitro expanded donor regulatory T cells. *Leukemia* 2020; 34(3):895–908. DOI: 10.1038/S41375-019-0625-3.
107. Trzonkowski P, Bieniaszewska M, Juścińska J et al. First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4⁺CD25⁺CD127⁺ T regulatory cells. *Clin Immunol* 2009; 133(1):22–26. DOI: 10.1016/J.CLIM.2009.06.001.

108. Marinelli Busilacchi E, Costantini A, Viola N et al. Immunomodulatory effects of tyrosine kinase inhibitor in vitro and in vivo study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24(2):267—275. DOI: 10.1016/J.BBMT.2017.10.039.
109. Theil A, Tuve S, Oelschlägel U et al. Adoptive transfer of allogeneic regulatory T cells into patients with chronic graft-versus-host disease. *Cytotherapy* 2015; 17(4):473—486. DOI: 10.1016/J.JCYT.2014.11.005.
110. Ex-vivo expanded donor regulatory T cells for prevention of acute graft-versus-host disease. URL: clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01795573?term=Treg&cond=gvh&draw=2&rank=7.
111. Multiple donor Treg DLI for severe refractory chronic GVHD. URL: clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02749084?term=Treg&cond=gvh&draw=2&rank=1.
112. Donor regulatory T cells infusion in patients with chronic graft-versus-host disease (GVHD). URL: clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01903473?term=Treg&cond=gvh&draw=2&rank=4.
113. Adoptive Treg cell for suppression of aGVHD after UCB HSCT for heme malignancies. URL: clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02991898?term=Treg&cond=gvh&draw=4&rank=22.
114. Lim JY, Im KII, Song Y et al. Third-party regulatory T cells prevent murine acute graft-versus-host disease. *Korean J Intern Med* 2018; 33(5):980—989. DOI: 10.3904/KJIM.2016.319.
115. Ng WF, Duggan PJ, Ponchel F et al. Human CD4+CD25+ cells: a naturally occurring population of regulatory T cells. *Blood* 2001; 98(9):2736—2744. DOI: 10.1182/BLOOD.V98.9.2736.
116. Nelson BH. IL-2, regulatory T cells, and tolerance. *J Immunol* 2004; 172(7):3983—3988. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.172.7.3983.
117. Matsuoka KI, Koreth J, Kim HT et al. Low-dose interleukin-2 therapy restores regulatory T cell homeostasis in patients with chronic graft-versus-host disease. *Sci Transl Med* 2013; 5(179):179ra43. DOI: 10.1126/SCITRANSLMED.3005265.
118. Kennedy-Nasser AA, Ku S, Castillo-Caro P et al. Ultra low-dose IL-2 for GVHD prophylaxis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation mediates expansion of regulatory T cells without diminishing antiviral and anti-leukemic activity. *Clin Cancer Res* 2014; 20(8):2215—2225. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3205.
119. Marín Morales JM, Münch N, Peter K et al. Automated clinical grade expansion of regulatory T cells in a fully closed system. *Front Immunol* 2019;10:38. DOI: 10.3389/FIMMU.2019.00038.
120. Del Papa B, Ruggeri L, Urbani E et al. Clinical-grade-expanded regulatory T cells prevent graft-versus-host disease while allowing a powerful T cell-dependent graft-versus-leukemia effect in murine models. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23(11):1847—1851. DOI: 10.1016/J.BBMT.2017.07.009.
121. Zhang LF, Xia CQ. Ex vivo expansion of regulatory T cells for clinical applications against graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126(23):4575—4582. DOI: 10.3760/CMAJ.ISSN.0366-6999.20130668.

122. Someya K, Nakatsukasa H, Ito M et al. Improvement of Foxp3 stability through CNS2 demethylation by TET enzyme induction and activation. *Int Immunol* 2017; 29(8):365—375. DOI: 10.1093/INTIMM/DXX049.
123. Tang Q, Henriksen KJ, Bi M et al. In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. *J Exp Med* 2004; 199(11):1455—1465. DOI: 10.1084/JEM.20040139.
124. Stephens LA, Malpass KH, Anderton SM. Curing CNS autoimmune disease with myelin-reactive Foxp3+ Treg. *Eur J Immunol* 2009; 39(4):1108—1117. DOI: 10.1002/EJI.200839073.
125. Trenado A, Charlotte F, Fisson S et al. Recipient-type specific CD4+CD25+ regulatory T cells favor immune reconstitution and control graft-versus-host disease while maintaining graft-versus-leukemia. *J Clin Invest* 2003; 112(11): 1688—1696. DOI: 10.1172/JCI17702.
126. Golshayan D, Jiang S, Tsang J et al. In vitro-expanded donor alloantigen-specific CD4+CD25+ regulatory T cells promote experimental transplantation tolerance. *Blood* 2007; 109(2):827—835. DOI: 10.1182/BLOOD-2006-05-025460.
127. Sagoo P, Ali N, Garg G et al. Human regulatory T cells with alloantigen specificity are more potent inhibitors of alloimmune skin graft damage than polyclonal regulatory T cells. *Sci Transl Med* 2011; 3(83):83ra42. DOI: 10.1126/SCITRANSLMED.3002076.
128. Raffin C, Vo LT, Bluestone JA. T reg cell-based therapies: challenges and perspectives. *Nat Rev Immunol* 2020; 20(3):158—172. DOI: 10.1038/S41577-019-0232-6.
129. Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood* 2010; 116(20):4099—4102. DOI: 10.1182/BLOOD-2010-04-281931.
130. Elinav E, Waks T, Eshhar Z. Redirection of regulatory T cells with predetermined specificity for the treatment of experimental colitis in mice. *Gastroenterology* 2008; 134(7):2014—2024. DOI: 10.1053/J.GASTRO.2008.02.060.
131. Wright GP, Notley CA, Xue SA et al. Adoptive therapy with redirected primary regulatory T cells results in antigen-specific suppression of arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(45):19078—19083. DOI: 10.1073/PNAS.0907396106.
132. Tsang JYS, Tanriver Y, Jiang S et al. Conferring indirect allospecificity on CD4+CD25+ Tregs by TCR gene transfer favors transplantation tolerance in mice. *J Clin Invest* 2008; 118(11):3619—3628. DOI: 10.1172/JCI33185.
133. Allan SE, Alstad AN, Merindol N et al. Generation of potent and stable human CD4+ T regulatory cells by activation-independent expression of FOXP3. *Mol Ther* 2008; 16(1):194—202. DOI: 10.1038/SJ.MT.6300341.
134. MacDonald KG, Hoeppli RE, Huang Q et al. Alloantigen-specific regulatory T cells generated with a chimeric antigen receptor. *J Clin Invest* 2016; 126(4): 1413—1424. DOI: 10.1172/JCI82771.

**Формирование окончательного
клинического диагноза, сроки,
порядок оценки ответа
на терапию и констатации
рецидива при трансплантации
аллогенных гемопоэтических
стволовых клеток**

А. И. Кашлакова, И. А. Лукьянова, А. Н. Соколов, В. Н. Двирнык,
Т. Н. Обухова, И. В. Гальцева, А. Б. Судариков, В. В. Троицкая,
Е. Н. Паровичникова

Глава 5.

Острый миелоидный и острый промиелоцитарный лейкозы

Сроки, порядок оценки ответа и формирование окончательного клинического диагноза

Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) образуют крайне гетерогенную группу злокачественных новообразований кроветворной ткани, прогноз при которых значительно различается в зависимости от исходных характеристик опухоли. У больных ОМЛ основным методом лечения по-прежнему остается программная химиотерапия (ХТ). Если выявляют мутации гена *FLT3* (*FLT3*-ITD либо *FLT3*-TKD), к терапии добавляют таргетные препараты. У больных из старшей возрастной группы применяют низкодозное воздействие, по возможности — с включением венетоклакса и гипометилирующих препаратов. Лечение больных острыми промиелоцитарными лейкозами (ОПЛ) осуществляют по риск-адаптированной программе с включением триоксида мышьяка и препаратов полностью транс-ретиноевой кислоты.

Перечень исследований, необходимых для формирования диагноза ОМЛ, представлен в табл. 1.

ОМЛ является наиболее частым показанием для трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Включение алло-ТГСК в протокол лечения предусмотрено практически всем

больным с впервые установленным диагнозом ОМЛ, за исключением молодых больных из группы благоприятного прогноза с хорошим клиренсом минимальной остаточной болезни (МОБ) [1, 2]. При ОПЛ осуществляют алло-ТГСК больным с персистенцией МОБ после окончания курсов консолидации ремиссии, а также больным с костномозговым рецидивом заболевания при выявлении сопутствующих аномалий кариотипа, ассоциированных с миелодисплазией. При решении вопроса об алло-ТГСК необходимо учитывать соматический статус больного и наличие сопутствующих заболеваний. С этой целью непосредственно перед алло-ТГСК проводят комплексное обследование пациентов, в частности, оценивают статус лейкоза. С целью оценки статуса заболевания перед алло-ТГСК повторно выполняют все исследования, перечисленные в табл. 1, за исключением FISH-исследования и цитохимического исследований клеток костного мозга (КМ).

Таблица 1. Перечень необходимых лабораторных и инструментальных исследований при формировании диагноза ОМЛ и ОПЛ

№	Исследование	Оцениваемые факторы	Комментарии
1	Общий анализ крови	Концентрация гемоглобина, количество лейкоцитов и тромбоцитов, лейкоцитарная формула	—
2	Цитологическое исследование КМ	Процент бластных клеток, характеристика всех ростков кроветворения	—
3	Цитохимическое исследование препаратов КМ	Линейная направленность бластных клеток в начале заболевания	Перед алло-ТГСК повторно не выполняют
4	ИФТ-исследование клеток КМ методом МПЦ	В начале заболевания определяют линейную направленность популяции/популяций бластных клеток. Определив в начале заболевания лейкоз-ассоциированный иммунофенотип опухолевых клеток, в процессе лечения отслеживают клиренс МОБ	Линейную принадлежность бластных клеток перед алло-ТГСК повторно не определяют. Мониторинг МОБ методом ИФТ не выполняют больным ОМЛ с t(8;21), inv(16) или t(16;16), а также больным ОПЛ (см. п. 7)
5	СЦИ клеток КМ	Кариотип, наличие клональных aberrаций	По возможности анализируют 20 метафаз
6	FISH-исследование клеток КМ	Определение цитогенетических аномалий с использованием ДНК-зондов в начале заболевания	В случае низкой клеточности образца КМ, недостаточного количества митозов (менее 20) либо низкого их качества, а также при наличии в анамнезе цитопении длительно 3 месяца и более либо установленного ранее

Таблица 1 (окончание). Перечень необходимых лабораторных и инструментальных исследований при формировании диагноза ОМЛ и ОПЛ

№	Исследование	Оцениваемые факторы	Комментарии
6			диагноза миелодиспластического синдрома обязательно выполняют FISH-исследования аберраций, связанных с миелодисплазией: $-7/\text{del}(7q)$, $-5/\text{del}(5q)$, $\text{inv}3$. Повторные FISH-исследования перед алло-ТГСК не выполняют
7	Исследование уровня химерного транскрипта методом количественной ПЦР	Уровень химерного транскрипта CBFB-MYH11, RUNX1-RUNX1T1, PML-RARA, химерного транскрипта при перестройках гена <i>KMT2A</i>	Выполняют только больным с соответствующими хромосомными аберрациями. Исследование уровня химерного транскрипта у больных с перестройками <i>KMT2A</i> не является стандартом определения МОБ и может служить лишь вспомогательным методом
8	Определение аллельной нагрузки мутаций генов	<i>NPM1</i> , <i>FLT3</i> -ITD, <i>FLT3</i> -TKD	Исследование аллельной нагрузки мутаций гена <i>FLT3</i> в процессе терапии не является стандартом определения МОБ и может служить лишь вспомогательным методом
9	Общеклиническое и цитологическое исследование спинномозговой жидкости	Цитоз и клеточный состав спинномозговой жидкости	Исследование проводят с целью исключения нейрорлейкемии
10	Оценка наличия экстрамедуллярных очагов лейкоэмического роста (УЗИ/КТ органов брюшной полости; КТ/МРТ головного мозга; ПЭТ/КТ всего тела)	Размеры печени, селезенки, лимфатических узлов; инфильтрация мозговых оболочек и наличие очагов лейкоэнцефалопатии; наличие экстрамедуллярных очагов с повышенным метаболизмом	Оценивают наличие и распространенность очагов экстрамедуллярного лейкоэмического роста
11	Гистологическое исследование тканей	Наличие опухолевого субстрата в различных органах и тканях	Выполняют у больных миелоидной саркомой и при ОМЛ с наличием экстрамедуллярных очагов

ИФТ — иммунофенотипическое исследование, иммунофенотипирование; КТ — компьютерная томография; МПЦ — многоцветная проточная цитометрия; МРТ — магнитно-резонансная томография; ПЦР — полимеразная цепная реакция; ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография; СЦИ — стандартное цитогенетическое исследование; УЗИ — ультразвуковое исследование; FISH — флюоресцентная гибридизация in situ.

В клинической практике при формулировании диагноза используют классификацию Всемирной организации здравоохранения 2016 г. (ВОЗ, 2016), согласно которой выделяют две основные большие категории ОМЛ: ОМЛ с устойчивыми генетическими аномалиями и ОМЛ, по-другому не специфицированные. Отдельно выделяют миелоидную саркому [3]. В настоящее время готовится к печати классификация ВОЗ 2022 г., согласно которой две основные категории ОМЛ — это ОМЛ с определяющими генетическими аномалиями и ОМЛ, определяемые дифференцировкой [4]. Согласно классификации ВОЗ, цитоморфологические характеристики бластных клеток являются определяющими только в случае отсутствия у пациента каких-либо аномалий кариотипа и мутаций генов. Тем не менее представляется целесообразным в любом случае указывать морфологический вариант заболевания в окончательном диагнозе. Классификацию франко-американо-британской группы (ФАБ) в настоящее время не используют. Линейную принадлежность бластных клеток определяют на основании совокупности результатов цитохимического и ИФТ-исследований КМ; выполнение с этой целью только одного из указанных исследований недостаточно. В случае если ИФТ-исследование выполнить невозможно и линейная направленность опухолевой популяции была определена по данным цитохимии, это должно быть отображено в диагнозе. Также обязательно указывают наличие гиперлейкоцитоза и экстрамедуллярных очагов лейкомического поражения (периферической лимфаденопатии, гепатомегалии, спленомегалии, нейролейкемии и т. д.) в начале заболевания.

При распределении больных по группам риска используют молекулярно-генетическую стратификационную шкалу, предложенную экспертами Европейской сети по изучению лейкозов (European Leukemia-Net, ELN) [1]. Обновленная версия этой шкалы представлена в табл. 2.

Таблица 2. Стратификация больных ОМЛ по группам риска на основании данных молекулярно-генетических исследований (ELN, 2022)

Группа прогноза	Генетические нарушения
Благоприятный	t(8;21)(q22;q22.1)/ <i>RUNX1::RUNX1T1</i>
	inv(16)(p13.1q22) или t(16;16)(p13.1;q22)/ <i>CBFB::MYH11</i>
	Мутации <i>NPM1</i> без мутаций <i>FLT3-ITD</i>
	Мутации внутри рамки считывания bZIP <i>CEBPA</i>
Промежуточный	Мутации <i>NPM1</i> с мутациями <i>FLT3-ITD</i>
	Дикий тип <i>NPM1</i> с мутациями <i>FLT3-ITD</i> (в отсутствие мутаций из группы неблагоприятного прогноза)
	t(9;11)(p21.3;q23.3)/ <i>MLLT3::KMT2A</i>
	Аномалии, не классифицированные как благоприятные или неблагоприятные

Таблица 2 (окончание). Стратификация больных ОМЛ по группам риска на основании данных молекулярно-генетических исследований (ELN, 2022)

Группа прогноза	Генетические нарушения
Неблагоприятный	t(6;9)(p23.3;q34.1)/ <i>DEK::NUP214</i>
	t(v;11q23.3)/ <i>KMT2A</i> -перестройки
	t(9;22)(q34.1;q11.2)/ <i>BCR::ABL1</i>
	t(8;16)(p11.2;p13.3)/ <i>KAT6A::CREBBP</i>
	inv(3)(q21.3q26.2) или t(3;3)(q21.3;q26.2)/ <i>GATA2, MECOM(EVI1)</i>
	t(3q26.2;v)/ <i>MECOM(EVI1)</i> -перестройки
	Моносомия 5 или del(5q); -7; -17/abn(17p)
	Комплексный кариотип, моносомный кариотип
	Мутации генов <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, ZRSR2</i>
	Мутации <i>TP53</i>

Современные рекомендации международных экспертных групп учитывают в первую очередь молекулярно-генетические характеристики опухолевого клона, поскольку именно они определяют прогноз заболевания. Тем не менее не всегда даже в крупных централизованных лабораториях возможно исследовать мутационный профиль всех требуемых генов, то есть диагностический поиск может быть ограничен техническими возможностями лаборатории. В этом случае стратификацию больных по группам прогноза ELN осуществляют с учетом выполненных исследований.

Особенную трудность при формировании диагноза и определении прогноза представляют варианты заболевания, при которых выявляют несколько аномалий кариотипа и/или молекулярно-генетических нарушений одновременно. В рекомендациях ELN 2022 г. на этот счет есть несколько уточнений. Мутации гена *NPM1* определяют прогноз в отсутствие устойчивых генетических нарушений, то есть фактически их учитывают только у больных с нормальным кариотипом и у больных с неклассифицированными хромосомными aberrациями. Если мутации этого гена выявляют у больных с неблагоприятными хромосомными поломками, превалирующим значением обладают именно эти поломки. Мутации генов, ассоциированных с миелодисплазией (*ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, ZRSR2*), не являются негативными прогностическими маркерами, если их выявляют у больных из группы благоприятного прогноза. Наличие транслокации t(9;11)(p21.3;q23.2) имеет большее значение, чем сопутствующие генетические мутации.

Диагноз ОПЛ не может быть достоверно установлен только на основании данных миелограммы (даже при наличии характерной цитоморфологической картины) и ИФТ бластных клеток. При подозрении на

ОПЛ его необходимо подтвердить при помощи цитогенетических [СЦИ, FISH-исследование на t(15;17)] либо молекулярных методов (исследование уровня химерного транскрипта PML-RARA). Если это невозможно, диагноз ОПЛ считается предварительным. Помимо этого, согласно рекомендациям ELN, в зависимости от количества лейкоцитов в периферической крови (ПК) до начала терапии, больных ОПЛ стратифицируют в группу низкого (количество лейкоцитов $< 10 \times 10^9/\text{л}$) либо высокого (количество лейкоцитов $\geq 10 \times 10^9/\text{л}$) риска [5].

Критерии ответа на терапию у больных острыми миелоидными и острыми промиелоцитарными лейкозами

Эффективность терапии оценивают по результатам цитологического исследования КМ и определения МОБ одним из двух доступных методов: методом ИФТ либо методом количественной ПЦР при наличии соответствующих мутаций генов или аберраций кариотипа. Мониторинг МОБ при помощи количественной ПЦР, то есть исследование аллельной нагрузки мутаций генов в динамике, рекомендовано больным ОМЛ с мутацией гена *NPM1*. Мы считаем, что больным ОМЛ с мутацией *NPM1* мониторинг МОБ лучше осуществлять обоими методами — количественной ПЦР и ИФТ, — поскольку при наличии мутаций нестандартного типа определение МОБ методом количественной ПЦР невозможно. Хотя у больных ОМЛ часто выявляют сразу несколько драйверных генетических мутаций, динамическое исследование аллельной нагрузки мутаций других генов для определения клиренса МОБ не используют. Уровень химерного транскрипта в ходе лечения отслеживают у больных ОПЛ с t(15;17)/*PML::RARA*, а также у больных СВФ ОМЛ (СВФ — core binding factor, основной связывающий фактор), то есть ОМЛ с t(8;21)/*RUNX1::RUNX1T1* или inv(16) и t(16;16)/*CBFB::MYH11*. Для этих групп пациентов именно исследование уровня химерного транскрипта является «золотым стандартом» определения МОБ. Использование метода количественной ПЦР для отслеживания уровня химерного транскрипта также применимо у больных с перестройками гена *KMT2A*, однако эти исследования являются менее стандартизированными. Мониторинг МОБ при помощи цитогенетических методов не выполняют [6, 7].

Предложенные ELN в 2022 г. критерии ответа на терапию представлены в табл. 3.

По нашему мнению, в клинической практике разделение категорий ремиссий на «полную ремиссию с частичным гематологическим вос-

Таблица 3. Критерии ответа у больных ОМЛ и ОПЛ (ELN, 2022)

Категория	Определение	Комментарии
Критерии ответа		
Полная ремиссия (ПР)	Констатируется при выявлении в аспирате КМ менее 5% бластных клеток, количестве нейтрофилов в ПК $\geq 1 \times 10^9/\text{л}$, количестве тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии экстрамедуллярных очагов лейкемического роста	
Полная ремиссия с частичным гематологическим восстановлением (чПР)	Констатируется при соответствии критериям ПР, однако при сохраняющейся нейтропении $\geq 0,5 \times 10^9/\text{л}$ и/или тромбоцитопении $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$	В случае если используют термин чПР, нпПР констатируют только у больных с ремиссией, не соответствующей критериям чПР
Полная ремиссия с неполным гематологическим восстановлением (нпПР)	Констатируется при соответствии критериям ПР, однако сохраняющейся нейтропении $< 1 \times 10^9/\text{л}$ или тромбоцитопении $< 100 \times 10^9/\text{л}$	
Морфологически свободный от лейкоза статус	Констатируется при соответствии критериям ПР в отсутствие гематологического восстановления	Термин применяют в основном в клинических исследованиях
Частичная ремиссия (ЧР)	Констатируется при снижении бластоза в КМ до 5–25% при условии снижения исходного количества бластных клеток минимум на 50%	Данный критерий используется для оценки эффективности лечения ОМЛ преимущественно в ходе клинических исследований I–II фазы
Нет ответа	Констатируется при несоответствии критериям ПР, чПР, нпПР	В случае отсутствия ответа после 2 курсов ХТ констатируют рефрактерное течение заболевания
Критерии ответа, включающие оценку МОБ		
ПР, чПР, нпПР, МОБ-негативные	Констатируется в случае, если достигнута ПР, чПР либо нпПР, при этом минимальная опухолевая популяция не выявляется методом ИФТ либо ПЦР (при наличии молекулярного маркера)	
ПР, чПР, нпПР, МОБ-позитивные	Констатируется в случае, если достигнута ПР, чПР либо нпПР, при этом выявляется минимальная опухолевая популяция	

становлением», «полную ремиссию с неполным гематологическим восстановлением», «частичную ремиссию» и «морфологически свободный от лейкоза статус» нецелесообразно. Все эти три категории

могут быть объединены в одну — «ПР с неполным гематологическим восстановлением». Этот критерий используют в том случае, если была достигнута ремиссия заболевания, однако в ПК сохраняются нейтропения $< 1 \times 10^9/\text{л}$ и/или тромбоцитопения $< 100 \times 10^9/\text{л}$.

Формирование окончательного диагноза острого миелоидного и острого промиелоцитарного лейкозов

Окончательный диагноз должен быть сформулирован максимально развернуто и отображать все исходные характеристики опухоли, все цитогенетические и молекулярные находки. Так, например, если при выполнении цитологического исследования КМ выявлены признаки миелодисплазии, это желательно указать в диагнозе. Также в диагноз должны быть вынесены следующие уточнения: развитие заболевания на фоне беременности, наличие в анамнезе злокачественных заболеваний кроветворной и/или лимфоидных тканей и предшествующей терапии (ХТ, лучевой и иммунотерапии) по поводу любого злокачественного новообразования, наличие наследственных предрасполагающих генетических мутаций. Все эти факторы являются прогностически неблагоприятными и могут влиять на терапевтическую стратегию [2, 8].

Кроме того, в диагнозе необходимо отображать проведенное лечение (в том числе алло-ТГСК с указанием источника трансплантата) и достигнутый ответ на терапию с указанием дат событий: достижения ремиссии и МОБ-негативности, смены терапии, констатации рефрактерности, развития рецидива и т. д. Заметим, что принятые рекомендации не предполагают ни стадирование острых лейкозов, ни разделение их на фазы, поэтому формулировки «первая атака», «острая фаза» и т. п. в настоящее время не используют.

Приводим примеры окончательных диагнозов:

- Острый миелоидный лейкоз без созревания с нормальным кариотипом, развитие заболевания на фоне III триместра беременности. Группа промежуточного прогноза (ELN, 2022).
- Острый миеломоноцитарный лейкоз с инверсией 16-й хромосомы, протекающий с гиперлейкоцитозом, нейрорлейкемией. Группа благоприятного прогноза (ELN, 2022).
- Острый моноцитарный лейкоз с созреванием (по данным цитохимического исследования КМ).
- Острый миелоидный лейкоз без созревания с $t(5;12)(q31-33;p13)/ETV6::PDGFRB$, протекающий с гепатоспленомегалией, перифери-

ческой лимфаденопатией. Группа промежуточного прогноза по ELN, 2022. Состояние после 2 курсов терапии по схеме «азатиодин + венетоклакс». Рефрактерное течение заболевания от ДД.ММ.ГГГГ. Состояние после курса «FLAG-Ida» в сочетании с иматинибом. МОБ-негативная ремиссия заболевания от ДД.ММ.ГГГГ. Состояние после алло-ТГСК от родственного полностью совместимого донора от ДД.ММ.ГГГГ. Ранний костномозговой рецидив заболевания от ДД.ММ.ГГГГ.

- Острый миелоидный лейкоз с созреванием с трисомией 21-й хромосомы, мутацией гена *RUNX1*. Группа неблагоприятного прогноза (ELN, 2022). Состояние после курса ХТ по схеме «7 + 3». Состояние после курса ХТ по схеме «НАМ». Рефрактерное течение заболевания от ДД.ММ.ГГГГ. Состояние после курса терапии по схеме «МДЦ + венетоклакс». МОБ-позитивная ремиссия заболевания с неполным гематологическим восстановлением от ДД.ММ.ГГГГ. Состояние после алло-ТГСК от гаплоидентичного донора от ДД.ММ.ГГГГ.
- Острый промиелоцитарный лейкоз с $t(15;17)/PML::RARA$. Группа высокого риска (ELN, 2022). Состояние после курса терапии «АТРА + АТО». МОБ-негативная ремиссия заболевания от ДД.ММ.ГГГГ.
- Миелоидная саркома с изолированным поражением яичек с нормальным кариотипом, мутацией гена *RUNX1*.
- Острый миелоидный лейкоз с нормальным кариотипом, ассоциированный с предшествующей ХТ, лучевой терапией (лимфома Ходжкина от ГГГГ).

Сроки и порядок оценки ответа после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при острых миелоидных и острых промиелоцитарных лейкозах

С целью оценки статуса заболевания после алло-ТГСК выполняют те же исследования, что и до трансплантации, за исключением FISH и цитохимического исследований клеток КМ. Дополнительно необходимо исследовать химеризм кроветворения. Критерии ответа после алло-ТГСК аналогичны критериям до трансплантации. В случае развития рецидива заболевания выполняют повторное полное обследование пациента, в том числе повторный поиск цитогенетических и молекулярных маркеров.

Порядок констатации рецидива после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при острых миелоидных и острых промиелоцитарных лейкозах

Выполненная алло-ТГСК не является гарантией излечения. Частота развития рецидива после трансплантации у больных ОМЛ составляет приблизительно 30—40%. Различают рецидив МОБ, костномозговой и экстрамедуллярный рецидивы заболевания.

Мониторинг МОБ методом количественной ПЦР является «золотым стандартом» у больных ОПЛ с $t(15;17)/PML::RARA$, ОМЛ с $t(8;21)/RUNX1::RUNX1T1$, ОМЛ $inv(16)$ и $t(16;16)/CBFB::MYH11$ и ОМЛ с мутациями гена *NPM1*. Этот метод является более чувствительным, чем метод ИФТ, поэтому, если рецидив заболевания был подтвержден при помощи ПЦР, подтверждать МОБ-позитивность еще и методом ИФТ с целью получения более достоверного результата не нужно. На результаты проточной цитометрии в этой когорте больных ориентируются только в том случае, если выполнение ПЦР-исследования невозможно. Исключение составляют больные ОМЛ с мутацией гена *NPM1*. Как уже было указано ранее, у этих больных лучше ориентироваться на исследование МОБ двумя методами — и ИФТ, и ПЦР, — что обусловлено возможными техническими трудностями при использовании метода количественной ПЦР.

У больных ОПЛ и СВФ ОМЛ рецидив МОБ констатируют в случае появления химерного транскрипта, выявленного в начале заболевания, после того как была установлена МОБ-негативная ремиссия заболевания либо при нарастании уровня химерного транскрипта на 1 порядок и более при условии, что эти результаты подтверждаются минимум двумя исследованиями, выполненными в динамике. Подтвердить рецидив МОБ минимум двумя исследованиями необходимо с целью исключения ложноположительного результата, промежуток между ними должен составлять 7—14 дней. Те же критерии рецидива МОБ используют у больных с мутациями *NPM1*, с одной лишь разницей: определяют не химерный транскрипт, а аллельную нагрузку генетической мутации.

Следует помнить, что у больных СВФ ОМЛ и ОМЛ с мутациями гена *NPM1* МОБ может персистировать в течение длительного времени и после окончания терапии. В этой группе необходимо особенно осторожно трактовать результаты молекулярно-генетических исследований.

Критерием костномозгового рецидива является выявление в КМ более 5% бластных клеток, однако необходимо учитывать, что в некоторых случаях бластоз 5—15% определяют и у больных с ремиссией забо-

левания. Выявление повышенного содержания бластных клеток возможно в тех случаях, когда пункция КМ производится в ранние сроки после курса ХТ (в пределах 28 дней после окончания курса). В подобных ситуациях повторяют пункцию КМ и оценивают показатели общего анализа крови, МОБ-статус, а также наличие либо отсутствие экстрамедуллярных очагов поражения. При отсутствии экстрамедуллярного поражения, сохраняющемся МОБ-негативном статусе и отсутствии бластных клеток в КМ рецидив заболевания не констатируют. Если сохраняется процент бластных клеток, равный 5—15%, или отмечается увеличение их процентного содержания, то констатируют рецидив заболевания. В этом случае проводят все исследования КМ повторно, в том числе ИФТ для оценки линейной направленности бластных клеток и исключения смены их фенотипа, а также цитогенетические и молекулярно-генетические исследования. Поскольку опухолевые клоны в ходе лечения эволюционируют, они могут приобретать дополнительные молекулярные маркеры и хромосомные aberrации, не выявляемые в начале заболевания. У больных после алло-ТГСК при оценке статуса лейкоза также крайне важно учитывать как данные миелограммы, так и результаты исследования МОБ. Незначительно повышенное содержание бластных клеток возможно у больных на ранних сроках после алло-ТГСК, что связано с постепенным восстановлением нормального кроветворения. Кроме того, могут наблюдаться диагностические сложности при подсчете бластных клеток в процессе цитологического исследовании КМ (например, в случае увеличенного содержания В-линейных предшественников). Подтвердить либо опровергнуть наличие опухолевой популяции можно с помощью ИФТ клеток КМ.

При обнаружении в аспирате КМ более 15% бластных клеток констатируют костномозговой рецидив заболевания даже при нормальных показателях крови и отсутствии экстрамедуллярных очагов поражения. Кроме того, рецидив констатируют сразу при обнаружении в аспирате КМ 5% и более бластных клеток и появлении отклонений в анализах ПК (лейкопении $\leq 3 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитопении $\leq 100 \times 10^9/\text{л}$, бластемии), если они не связаны с недавно проведенным курсом ХТ или алло-ТГСК. В обеих ситуациях рецидив необходимо подтвердить, выполнив повторную пункцию КМ.

Экстрамедуллярный рецидив заболевания констатируют в случае появления экстрамедуллярного поражения органов и тканей (лейкемиды в коже и на глазном дне, нейрорлейкемия, инфильтрация молочных желез, яичек и т. д.) при отсутствии инфильтрации бластными клетками КМ (изолированный экстрамедуллярный рецидив). Подтвердить появление экстрамедуллярных очагов можно с помощью ПЭТ/КТ. Если появление экстрамедуллярных очагов лейкоэмического

роста сочетается с поражением КМ, такой рецидив называют смешанным. Кроме того, выделяют комбинированные рецидивы, при которых поражение КМ сочетается с рецидивом нейрорлейкемии.

По времени развития различают ранний и поздний рецидивы. Рецидив считается ранним, если он констатирован в течение 12 месяцев от момента достижения ремиссии. Если рецидив констатируют после 12 месяцев ремиссии, то его определяют как поздний [1, 9, 10].

Литература

1. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood* 2022; 140(12):1345—1377. DOI: 10.1182/blood.2022016867.
2. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood* 2022; 140(11):1200—1228. DOI: 10.1182/blood.2022015850.
3. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127(20):2391—2405. DOI: 10.1182/blood-2016-03-643544.
4. Khoury JD, Solary E, Abla O et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36(7):1703—1719. DOI: 10.1038/s41375-022-01613-1.
5. Sanz MA, Fenaux P, Tallman MS et al. Management of acute promyelocytic leukemia: updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet. *Blood* 2019; 133(15):1630—1643. DOI: 10.1182/blood-2019-01-894980.
6. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood* 2021; 138(26):2753—2767. DOI: 10.1182/blood.2021013626.
7. Ommen HB. Monitoring minimal residual disease in acute myeloid leukaemia: a review of the current evolving strategies. *Ther Adv Hematol* 2016; 7(1):3—16. DOI: 10.1177/2040620715614529.
8. Троицкая В. В. Риск-адаптированная стратегия терапии острого промиелоцитарного лейкоза и острых лейкозов у беременных женщин: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2023. 46 с.
9. Bader P, Kreyenberg H, Ossenkoppele G. Monitoring minimal residual disease in ALL and AML. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M et al. (editors). *The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies*. Cham: Springer; 2019. P. 431—436. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5_57.
10. Versluis J, Cornelissen JJ, Craddock C et al. Acute myeloid leukemia in adults. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M et al. (editors). *The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies*. Cham: Springer; 2019. P. 507—521. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5_69.

О. А. Алешина, А. Н. Васильева, В. Н. Двирный,
Т. Н. Обухова, Е. Н. Паровичникова

Глава 6.

Острые лимфобластные лейкозы

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) — клональное заболевание системы крови, возникающее вследствие мутаций в клетках — предшественниках лимфопоэза на разных этапах развития. Опухолевые клетки инфильтрируют костный мозг, постепенно вытесняя нормальные гемопоэтические клетки, что в свою очередь угнетает кроветворение. Для ОЛЛ характерна также бластная инфильтрация различных внутренних органов. В зависимости от того, на каком из ранних этапов произошла генетическая поломка, ОЛЛ разделяются на Т-клеточные острые лимфобластные лейкозы (Т-ОЛЛ) и В-клеточные острые лимфобластные лейкозы (В-ОЛЛ). В отдельную группу выделяют так называемые острые лейкозы смешанного иммунофенотипа (СФОЛ), у которых одновременно выявляются признаки и миелоидной, и лимфоидной дифференцировки в рамках одной популяции клеток (бифенотипический вариант) или наличие двух и более популяций (билинейный вариант), что свидетельствует о том, что мутации возникают на уровне ранней кроветворной клетки.

ОЛЛ наиболее часто возникает в детском возрасте: первый пик заболеваемости регистрируется в 3—4 года, затем заболеваемость снижается, однако после 40 лет отмечается повторный подъем (второй пик заболеваемости). ОЛЛ составляет около 85% лейкозов детского возрас-

та, среди всех первичных случаев диагностики ОЛЛ 55% составляют пациенты в возрасте до 20 лет [1]. СФОЛ встречается редко и составляет от 1% до 5% впервые диагностированных острых лейкозов [2].

Установление диагноза базируется на исследованиях морфологических, цитохимических, иммунофенотипических и молекулярно-цитогенетических особенностей лейкозных клеток, наличии поражения костного мозга и/или очагов экстрамедуллярного вовлечения. Только комплексный подход позволяет оценить прогностические факторы у каждого конкретного больного.

Диагноз ОЛЛ устанавливают при обнаружении в пунктате костного мозга 25% и более бластных клеток, морфоцитохимически и иммунофенотипически характеризующихся как лимфобласты. При обнаружении в пунктате костного мозга менее 25% бластных клеток и наличии экстрамедуллярных очагов поражения рекомендуется определять опухоль как лимфобластную лимфому (ЛБЛ) с вовлечением костного мозга. В случае отсутствия поражения опухолевыми клетками костного мозга, но наличия экстрамедуллярного опухолевого образования, по данным гистологического и иммуногистохимического исследований которого подтверждена инфильтрация Т- или В-лимфобластами, рекомендуется классифицировать случай как лимфобластную лимфому без вовлечения костного мозга.

В МКБ-10 (Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем, 10-го пересмотра) острые лимфобластные лейкозы закодированы в разделе «**Лимфоидный лейкоз (C91)**»:

- C91.0 — острый лимфобластный лейкоз.
- C91.5 — Т-клеточный лейкоз взрослых.
- C91.7 — другой уточненный лимфоидный лейкоз.
- C91.9 — лимфоидный лейкоз неуточненный.
- C83.5 — лимфобластная (диффузная) лимфома.

В классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ОЛЛ рассматривается в разделе опухолей из предшественников Т- и В-лимфоцитов [3]:

- лимфобластный лейкоз/лимфома из В-предшественников (синоним: ОЛЛ из предшественников В-клеток);
- лимфобластный лейкоз/лимфома из Т-предшественников (синоним: ОЛЛ из предшественников Т-клеток).

В-лимфобластный лейкоз/лимфома

- В-лимфобластный лейкоз/лимфома, без дополнительного уточнения (БДУ) (NOS — not otherwise specified).
- В-лимфобластный лейкоз/лимфома с повторяющимися хромосомными аномалиями:

- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с $t(9;22)(q34;q11.2)$; *BCR::ABL*;
- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с $t(v;11q23)$; *MLL* rearranged;
- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с $t(12;21)(p13;q22)$; *TEL::AML1(ETV6-RUNX1)*;
- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с гипердиплоидией;
- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с гиподиплоидией (гиподиплоидный ОЛЛ);
- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с $t(5;14)(q31;q32)(IL3-IGH)$;
- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с $t(1;19)(q23;p13.3)$; *E2A-PBX1*; *TCF3::PBX1*);
- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с интрахромосомной амплификацией 21(*iAMP21*);
- ▲ В-лимфобластный лейкоз/лимфома с транслокацией, вовлекающей тирозинкиназы или цитокиновый рецептор (*BCR-ABL1-like ALL*).

Т-лимфобластный лейкоз/лимфома

- Лимфобластный лейкоз из ранних Т-клеточных предшественников;
- НК-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфома.

В классификации ВОЗ 2022 г., 5-й пересмотр, среди В-клеточных лимфобластных лейкозов/лимфом выделены новые варианты: В-лимфобластный лейкоз/лимфома с *ETV6::RUNX1*-подобными признаками и В-лимфобластный лейкоз/лимфома с *TCF3::HLF*, а НК-клеточный лейкоз/лимфома исключен из раздела Т-клеточный лейкоз/лимфома [4].

Согласно классификации ВОЗ 2017 г. [3], ЛБЛ с поражением костного мозга и без его поражения объединяются в единую группу «лимфобластные лейкозы/лимфомы из предшественников В- или Т-клеток». Несмотря на широко распространенную точку зрения о том, что ОЛЛ и ЛБЛ характеризуются различными клиническими проявлениями одного и того же заболевания, в процессе выполненного анализа экспрессии генов [5] было показано четкое разделение между Т-клеточными ОЛЛ и Т-клеточными ЛБЛ ввиду различия экспрессии отдельных генов. Ряд этих различий может быть обусловлен специфическими механизмами, имеющими отношение к стромальным клеткам. В то же время имеются доказательства в пользу того, что важные сигнальные пути, регулирующие рост клеток при Т-клеточных ОЛЛ и Т-клеточных ЛБЛ, могут отличаться, что частично объясняет различие клинических проявлений обоих заболеваний [5].

Для иммунофенотипической диагностики ОЛЛ необходимо использовать широкую панель моноклональных антител с целью точной ве-

рификации диагноза. При иммунологической характеристике ОЛЛ используется классификация EGIL (табл. 1, 2) [6].

В-ОЛЛ:

- **ВI** — бластные клетки экспрессируют CD19, cyCD79a, cyCD22, ядерную TdT, отсутствуют CD10, тяжелые и легкие цепи иммуноглобулина;
- **ВII** («common» В-ОЛЛ) — CD10-позитивен, тяжелые и легкие цепи иммуноглобулина отрицательны;
- **ВIII** — выявляется тяжелая цепь иммуноглобулина в цитоплазме клетки;
- **ВIV** — опухолевые клетки экспрессируют тяжелые цепи Ig на мембране и/или легкие цепи Ig в цитоплазме или на мембране.

Т-ОЛЛ:

- **ТI** — характерна экспрессия только ранних маркеров (cyCD3, CD7; возможно, CD10, HLA-DR, CD34) и отсутствие CD4 и CD8, CD1a;
- **ТII** — появляется CD2 и/или CD5 и/или CD8;
- **ТIII** (кортикальный Т-ОЛЛ) — обязательно наличие CD1a; мембранный CD3– или +;
- **ТIV** (медуллярный Т-ОЛЛ) характеризуется экспрессией мембранного CD3, CD4 или CD8; CD1a отрицателен.

Таблица 1. В-ОЛЛ: классификация EGIL

Вариант EGIL	Критерии иммунологического варианта В-ОЛЛ/лимфомы
Про-В ОЛЛ (ВI)	• CD10– • Цитоплазматические и поверхностные κ или λ– • Поверхностный IgM–
«Common» В-ОЛЛ (ВII)	• CD10+ • Цитоплазматические и поверхностные κ или λ– • Цитоплазматический и поверхностный IgM–
Пре-В ОЛЛ (ВIII)	• Цитоплазматический IgM+ • CD10+ или CD10– • Цитоплазматические и поверхностные κ или λ– • Поверхностный IgM–
Зрелый В-ОЛЛ (ВIV)	• Цитоплазматические и поверхностные κ или λ+ и/или • Поверхностный IgM+ • CD10+ или CD10–

Таблица 2. Т-ОЛЛ: классификация EGIL

Вариант EGIL	Критерии иммунологического варианта Т-ОЛЛ/лимфомы
Про-Т ОЛЛ (ТI)	• CD7+ или CD7– • CD2–CD5–CD8– • CD1a– • TCR α/β– TCR γ/δ–
Пре-Т ОЛЛ (ТII)	• CD7+ • CD2+ и/или CD5+ и/или CD8+ • CD1a– • TCR α/β– TCR γ/δ–
Кортикальный Т-ОЛЛ (ТIII)	• CD7+ и/или CD2+ и/или CD5+ и/или CD8+ • CD1a+ • TCR α/β– TCR γ/δ–
Зрелый Т-ОЛЛ (ТIV)	• CD7+ и/или CD2+ и/или CD5+ и/или CD8+ • Поверхностный CD3+ CD1a–
α/β + Т-ОЛЛ (группа а)	• TCR α/β +
γ/δ + Т-ОЛЛ (группа b)	• TCR γ/δ +

Особого внимания требуют больные со «зрелым» иммуновариантом В-ОЛЛ (ВIV). Пациентам с такими вариантами ОЛЛ рекомендовано исследование перестроек гена *c-MYC* для исключения диагноза лейкоза/лимфомы Беркитта. Всем больным со «зрелым» вариантом В-ОЛЛ обязательно должно быть выполнено FISH-исследование $t(9;22)/BCR::ABL$. Среди В-ОЛЛ/ЛЛ с повторяющимися генетическими аномалиями только для двух вариантов описаны характерные особенности иммунофенотипа бластных клеток.

Больным В-ОЛЛ со зрелым иммунофенотипом следует выполнять FISH-исследование на наличие транслокаций с вовлечением локуса гена *MYC*, а в случае их обнаружения проводить дополнительное исследование на наличие транслокаций *BCL2* и *BCL6* — double-/triple-hit В-ОЛЛ. Больных В-ОЛЛ с транслокациями *MYC* и/или *BCL2* и *BCL6* относят к группе высокого риска [6—9].

Так, для В-лимфобластного лейкоза/лимфомы с *BCR::ABL1* типично обнаружение CD19+CD10+TdT+, присутствует коэкспрессия миелоидных антигенов CD13 и CD33, CD66с, а CD117 отрицателен.

При наличии реаранжировок гена *KMT2A* (В-лимфобластный лейкоз/лимфома с *KMT2A*) часто наблюдается экспрессия хондроитин-сульфат протеогликана (NG2) в сочетании с CD15 и/или CD65. Этот вариант ОЛЛ имеет неблагоприятный прогноз.

Также следует обратить внимание на пациентов с Т-лимфобластным лейкозом из ранних предшественников (ЕТР-ОЛЛ). Бластные клетки при ЕТР-ОЛЛ характеризуются такими ключевыми особенностями, как: отсутствие экспрессии CD1a, CD8, наличие экспрессии cytCD3 ,

CD7, экспрессия CD5 в менее чем 75% клеток, а также экспрессия одного и более маркеров стволовых клеток (CD34, CD117, HLA-DR) или миелоидных маркеров (CD13, CD33, CD11b, CD65) [7]. В случае выявления экспрессии CD5 в более чем 75% клеток и наличия всех остальных критериев ЕТР-ОЛЛ устанавливается диагноз неаг-ЕТР. У всех больных с опухолевым поражением средостения рекомендовано выполнение позитронно-эмиссионной томографии / компьютерной томографии (ПЭТ/КТ) до начала химиотерапии или в течение предфазы, при невозможности — КТ органов грудной клетки с внутривенным контрастным усилением, для максимально точной визуализации объема поражения. Необходимо проводить тщательный осмотр пациентов для определения вовлечения таких очагов, как кожа, яички и прочие редкие локализации, которые поддаются визуализации.

Информация, представленная в табл. 3, позволит провести необходимый объем диагностических исследований и на их основании сформулировать окончательный клинический диагноз.

Таблица 3. Лабораторные и инструментальные исследования, необходимые для подтверждения диагноза у больных с ОЛЛ

№	Исследования	Факторы для оценки
1	Общий анализ крови	Количество лейкоцитов, количество циркулирующих бластных клеток
2	Биохимический анализ крови	Активность ЛДГ, АСТ, АЛТ, ГГТ, ЩФ, концентрация креатинина, мочевины, альбумина
3	Коагулограмма	Концентрация фибриногена, протромбиновый индекс, АЧТВ, ТВ
4	Цитологическое и цитохимическое исследование костного мозга	Количество бластных клеток, их морфологические и цитохимические особенности
5	Иммунофенотипическое исследование костного мозга	Иммунофенотипические особенности бластных клеток, определение ЛАИФ
6	Стандартное кариотипирование	Определение кариотипа опухолевых клеток и наличия комплексных изменений
7	Цитогенетическое исследование методом FISH	В зависимости от установленного ИФТ-варианта: для ОЛЛ — t(9;22), t(v;11)(v;q23), t(1;19)(q23;p13) и другие; для СФОЛ — t(9;22), t(v;11)(v;q23)
8	Молекулярно-генетическое исследование	В зависимости от установленного ИФТ-варианта и цитогенетических аномалий: для ОЛЛ — мутации в генах <i>IKZF1</i> , <i>FLT3</i> , мРНК химерного транскрипта <i>MLL::AF4</i> , <i>MLL::AF9</i> , <i>MLL::AF6</i> , <i>BCR::ABL</i> , <i>E2A::PBX1</i> ; для СФОЛ — мРНК химерного транскрипта <i>MLL::AF4</i> , <i>MLL::AF9</i> , <i>MLL::AF6</i> , <i>BCR::ABL</i>

Таблица 3 (окончание). Лабораторные и инструментальные исследования, необходимые для подтверждения диагноза у больных с ОЛЛ

№	Исследования	Факторы для оценки
9	Общеклиническое исследование спинномозговой жидкости	Оценка цитоза, подсчет клеток в цитологическом препарате, морфологические характеристики клеток
10	Оценка распространенности поражения внутренних органов (УЗИ брюшной полости, периферических лимфатических узлов, малого таза, МРТ головного мозга, КТ головного мозга, КТ органов грудной клетки, в некоторых случаях — ПЭТ/КТ), осмотр кожных покровов и исследование глазного дна (офтальмолог)	Наличие экстрамедуллярных очагов поражения, гепато- и/или спленомегалии, лимфаденопатии, поражения органов средостения и вовлечения в специфический процесс смежных тканей

АЛТ — аланинаминотрансфераза; АСТ — аспартатаминотрансфераза; АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время; ГГТ — гамма-глутамилтрансфераза; ИФТ — иммунофенотипический; ЛАИФ — лейкоз-ассоциированный иммунофенотип; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; МРТ — магнитно-резонансная томография; ТВ — тромбиновое время; УЗИ — ультразвуковое исследование; ЩФ — щелочная фосфатаза.

Порядок оценки ответа на терапию и констатации ремиссии, первично рефрактерного течения у больных острыми лимфобластными лейкозами

Основные понятия и критерии эффективности лечения ОЛЛ разрабатывались параллельно созданию современных программ и несколько раз в течение последних десятилетий претерпевали изменения.

Критерии клинико-гематологической (то есть полной) ремиссии, ремиссии с неполным восстановлением показателей крови, ремиссии с отсутствием признаков минимальной остаточной болезни (МОБ) — МОБ-негативной ремиссии, цитогенетической и молекулярной ремиссии представлены в табл. 4.

Ответ на терапию и подтверждение полной ремиссии при вовлечении экстрамедуллярных очагов проводится согласно критериям Cheson для неходжкинских лимфом. На их основании полная ремиссия может быть подтверждена при полном исчезновении всех очагов поражения, в том числе выявляемых при помощи лабораторных и лучевых методов диагностики, а также клинических симптомов, если они были до начала лечения; размеры лимфатических узлов: (а) $\leq 1,5$ см по наибольшему диаметру, если до начала лечения размеры лимфатических узлов были больше 1,5 см или редукция опухолевого конгломерата составляет

более 75%, (b) $\leq 1,0$ см по наибольшему диаметру, если до начала лечения размеры лимфатических узлов были 1,1—1,5 см; печень, селезенка, если были увеличены до начала лечения, не пальпируются, по данным лучевых методов объемные образования в них не выявляются.

Рефрактерное течение ОЛЛ констатируется при отсутствии клинико-гематологической ремиссии (полной ремиссии) после завершения двух курсов (2 фаз) индукционной терапии или при признаках прогрессии в результате проведения терапии. Необходимо подчеркнуть, что достижение ремиссии во время индукции, а именно после второго курса индукции у больных с ОЛЛ, получающих длительную постоянную полихимиотерапию по протоколам ОЛЛ-2009, ОЛЛ-2012m или ОЛЛ-2016, не ассоциировано с неблагоприятным прогнозом. Однако в исследовании ОЛЛ-2016 было показано, что персистенция МОБ после окончания 2 фаз индукции (день 70 по протоколу) свидетельствует о неблагоприятном прогнозе при оценке долгосрочных результатов терапии.

Больным с изолированным экстрамедуллярным поражением или с экстрамедуллярным поражением с минимальным вовлечением костного мозга для оценки противоопухолевого ответа необходимо выполнение ПЭТ/КТ на момент окончания индукционной терапии, при невозможности выполнения ПЭТ/КТ обязательно следует выполнять КТ- или МРТ-исследования с внутривенным контрастированием.

В точках взятия костного мозга необходимо выполнять исследование МОБ методом проточной цитофлуометрии для Rh-негативных и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для Rh-позитивных ОЛЛ [особенно важно в период индукции ремиссии, до и после выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК)]!!! дальнейший мониторинг МОБ проводится согласно протоколу или при наличии показаний].

Информация, представленная в табл. 4, позволит оценить ответ после проведенной индукционной терапии.

Таблица 4. Критерии противоопухолевого ответа у больных ОЛЛ

Категория ответа	Критерии ответа
Клинико-гематологическая ремиссия (полная ремиссия — ПР)	Обнаружение в пунктате костного мозга $\leq 5\%$ бластных клеток при нормальном соотношении всех ростков кроветворения, при количестве нейтрофилов в периферической крови $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при количестве тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии экстрамедуллярных очагов лейкоэмического роста
ПР с неполным восстановлением показателей крови	Обнаружение в пунктате костного мозга $\leq 5\%$ бластных клеток при нарушении соотношения ростков кроветворения, при количестве нейтрофилов в периферической крови $< 1 \times 10^9/\text{л}$, а тромбоцитов $< 100 \times 10^9/\text{л}$

Таблица 4 (окончание). Критерии противоопухолевого ответа у больных ОЛЛ

Категория ответа	Критерии ответа
МОБ-негативная ремиссия	Отсутствие популяции с аберрантным иммунофенотипом с учетом оптимального значения чувствительности/специфичности или не-обнаружение химерного транскрипта методом ПЦР при ПР
Молекулярная ремиссия	Отсутствие определяемого исходного химерного транскрипта или величина аллельной нагрузки 0% при ПР
Цитогенетическая ремиссия	Необнаружение исходных аномалий кариотипа стандартными цитогенетическими методами (стандартное цитогенетическое исследование и FISH) при ПР
Рефрактерное течение	Обнаружение в пунктате костного мозга $\geq 5\%$ бластных клеток после завершения двух курсов индукционной терапии в первой линии или при оценке ответа после 1-го курса второй и последующих линий терапии

Исходя из вышеперечисленных данных, приводим пример формулирования окончательного диагноза больного:

«Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз (ТПВ-вариант), протекающий с комплексными изменениями кариотипа, с массивным образованием средостения, с распространением конгломерата в обе яремно-околоключичные области, инфильтрацией щитовидной железы, перикарда, медиастинальной плевры слева, периферической лимфаденопатией, нейрорлейкемией. Состояние на терапии по протоколу ОЛЛ-2009 (с 11.12.2010). Клинико-гематологическая ремиссия от 15.01.2011».

«Ph-негативный В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (ВПВ-вариант) с комплексными изменениями кариотипа, протекающий с гиперлейкоцитозом $400 \times 10^9/\text{л}$, периферической лимфаденопатией, гепатоспленомегалией, экстремедулярным поражением кожи».

«Ph-негативный В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (ВI-вариант) с реаранжировкой гена *MLL (KMT2A)*, протекающий с нейрорлейкемией».

«Лейкоз Беркитта (ВIV-вариант), протекающий с транслокацией $t(2;8)(p11;q24)$, с поражением лимфатических узлов забрюшинного пространства. Состояние после терапии по протоколу ЛБ-М4. Полная ремиссия от мая 2013 г.».

«Лимфобластная лимфома (ТIV-вариант) с массивным поражением средостения, инфильтрацией медиастинальной плевры, перикарда, почек, поджелудочной железы. Состояние на терапии по протоколу ОЛЛ-2016 (с 10.12.2020). Ремиссия заболевания от 16.01.2021. Полный метаболический ответ на 70-й день терапии».

«Ph-позитивный В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (ВП-вариант), протекающий с делецией гена *IKZF1*, гиперлейкоцитозом $330 \times 10^9/\text{л}$, гепатоспленомегалией, нейролейкемией, периферической лимфаденопатией. Состояние после 2 курсов индукции, 3 курсов консолидации по протоколу ОЛЛ-2012m. Клинико-морфологическая ремиссия на 43-й день терапии. Молекулярная ремиссия на 70-й день терапии. Состояние после трансплантации аллогенного костного мозга от родственного HLA-идентичного донора от 07.11.22. Ранний комбинированный (костно-мозговой и нейрорецидив) рецидив от 12.01.2023».

Сроки и порядок оценки статуса заболевания после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при острых лимфобластных лейкозах

С целью оценки статуса заболевания после алло-ТГСК выполняют те же исследования, что и до трансплантации. Статус ответа после алло-ТГСК оценивается в соответствии с аналогичными критериями противоопухолевого ответа, которые описаны выше. В случае развития рецидива заболевания выполняют повторное полное обследование пациента, в т. ч. повторный поиск цитогенетических и молекулярных маркеров. Необходимые сроки оценки статуса заболевания после алло-ТГСК совпадают со сроками рутинного обследования пациентов после алло-ТГСК и подробно указаны в главе «Алгоритмы наблюдения и лабораторного мониторинга за пациентами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток».

Порядок констатации рецидива у больных острыми лимфобластными лейкозами после химиотерапии и после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Рецидив ОЛЛ констатируется при обнаружении в пункте костного мозга более 5% бластных клеток или при появлении экстрамедуллярного очага поражения, подтвержденного морфологическим и/или иммунофенотипическим исследованием.

Рецидив заболевания не констатируется при обнаружении в очередном контрольном пункте костного мозга более 5% бластных клеток,

но менее 10%, если пункция костного мозга выполнялась в ранние сроки после курса химиотерапии или алло-ТГСК или использовались ростовые гемопоэтические факторы с целью сокращения периода нейтропении. Повторная диагностическая пункция осуществляется через 7—10 дней после первой. Если сохраняется доля бластных клеток выше 5% или отмечается увеличение их количества, то констатируется рецидив.

Ранний рецидив констатируют, если он возник на фоне поддерживающей терапии или раньше чем через полгода от момента ее окончания. Поздний рецидив констатируют, если он возник через полгода и более от окончания поддерживающей терапии. Рецидивом также является и внекостномозговое поражение (нейролейкемия, поражение яичек, увеличение селезенки и т. д.), даже при отсутствии изменений крови и костного мозга.

МОБ-рецидив заболевания констатируется при обнаружении в пунктате костного мозга методом проточной цитофлуометрии популяции с aberrантным иммунофенотипом при сохраняющейся ПР и установлении МОБ-негативного статуса заболевания на предшествующих этапах или при обнаружении химерного транскрипта и сохраняющейся ПР, если ранее была достигнута полная молекулярная ремиссия. При подозрении на МОБ-рецидив исследование должно быть выполнено минимум дважды, с целью исключения ложноположительных результатов проточной цитометрии.

Молекулярный рецидив констатируется только при обнаружении в пунктате костного мозга методом ПЦР химерного транскрипта или аллельной нагрузки при сохраняющейся клинико-морфологической ремиссии при установлении молекулярной ремиссии на предшествующих этапах.

Цитогенетический рецидив констатируется при обнаружении в пунктате костного мозга стандартными цитогенетическими методами исходных аномалий кариотипа при том, что клинико-морфологическая ремиссия сохраняется и было подтверждено достижение цитогенетической ремиссии на предшествующих этапах.

Литература

1. Dore G, Devesa SS, Curtis RE et al. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001—2007. *Blood* 2012; 119(1):34—43. DOI: 10.1182/blood-2011-04-347872.
2. Weinberg OK, Dennis J, Zia H et al. Adult mixed phenotype acute leukemia (MPAL): B/myeloid MPALisoMPO is distinct from other MPAL subtypes. *Int J Lab Hematol* 2023; 45(2):170—178. DOI: 10.1111/ijlh.13988.

3. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. (editors). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edition. Lion: IARC; 2017. 585 p.
4. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia* 2022; 36(7):1720—1748. DOI: 10.1038/s41375-022-01620-2.
5. Gökbuget N. Recommendations of the European Working Group for Adult ALL (EWALL). Bremen: UNI-MED; 2011. 204 p.
6. Bene MC, Castoldi G, Knapp W et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9(10):1783—1786.
7. Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* 2009; 10(2):147—156. DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70314-0.
8. Конова З. В., Паровичникова Е. Н., Гальцева И. В. и др. Прогностическая значимость минимальной остаточной болезни перед трансплантацией аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных острыми лейкозами. *Гематология и трансфузиология* 2021; 66(4):539—555. DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-4-539-555.
9. Moorman AV, Chilton L, Wilkinson J et al. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115(2):206—214. DOI: 10.1182/blood-2009-07-232124.
10. Обухова Т. Н., Паровичникова Е. Н., Гаврилина О. А. и др. Double- и triple-hit В-клеточный острый лимфобластный лейкоз. *Гематология и трансфузиология* 2020; 65(S1):92—93.
11. Stratmann JA, von Rose AB, Koschade S et al. Clinical and genetic characterization of de novo double-hit B cell precursor leukemia/lymphoma. *Ann Hematol* 2019; 98(3):647—656. DOI: 10.1007/s00277-018-03590-x.
12. Wagener R, López C, Kleinheinz K et al. IG-MYC (+) neoplasms with precursor B-cell phenotype are molecularly distinct from Burkitt lymphomas. *Blood* 2018; 132(21):2280—2285. DOI: 10.1182/blood-2018-03-842088.

Глава 7.

Приобретенная апластическая анемия

Современные программы лечения апластической анемии (АА) направлены на преодоление основных патогенетических механизмов развития заболевания, а именно: подавление аутоагрессии в отношении гемопоэтических клеток и восстановление кроветворения [1]. Основными терапевтическими направлениями являются комбинированная иммуносупрессивная терапия и трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) от HLA-идентичного донора [2, 3]. Алгоритм проведения алло-ТГСК или иммуносупрессивная терапия [лошадиный антиtimoцитарный глобулин (АТГ) + циклоспорин ± элтромбопаг] в первой линии или при последующем лечении зависит от возраста больного, тяжести заболевания (тяжелая или сверхтяжелая АА), наличия HLA-идентичного родственного донора и тяжелой сопутствующей патологии [4].

Эффективность лечения АА определяется четкой диагностикой заболевания и адекватным выбором первой линии терапии. Диагноз АА устанавливают на основании клинических проявлений болезни и данных лабораторного обследования (табл. 1). Основными клиническими проявлениями болезни являются анемический, геморрагический синдромы, а также тяжелые инфекционные осложнения. Критерии диагноза: трехростковая цитопения (содержание гемоглобина

< 110 г/л, количество нейтрофилов $< 2,0 \times 10^9$ /л, количество тромбоцитов $< 100,0 \times 10^9$ /л); снижение клеточности костного мозга $< 25\%$ (по отношению к возрастной норме) или клеточность $> 25\%$, но $< 50\%$ при содержании миелоидных элементов (то есть исключая лимфоциты и плазматические клетки) $< 30\%$ и отсутствие мегакариоцитов по данным пунктата костного мозга (стерильная пункция); аплазия костного мозга (преобладание жирового костного мозга) в биоптате подвздошной кости (билатеральная трепанобиопсия) [5]. Необходимо учитывать критерии тяжести: нетяжелая АА (гранулоцитопения $\geq 0,5 \times 10^9$ /л), тяжелая АА (гранулоцитопения $< 0,5 \times 10^9$ /л, тромбоцитопения $< 20,0 \times 10^9$ /л), сверхтяжелая (очень тяжелая) АА (гранулоцитопения $< 0,2 \times 10^9$ /л). Критерии диагноза и тяжести АА представлены в табл. 1 и 2. Выделяют следующие варианты течения апластической анемии: АА, протекающая без клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ-клона); АА, протекающая с ПНГ-клоном; АА, протекающая с синдромом ПНГ (субклинические признаки внутрисосудистого гемолиза) [5]. АА в 10–15% случаев может протекать с хромосомными aberrациями. Кроме того, у больных АА возможно развитие таких клональных заболеваний, как классическая ПНГ и миелодиспластический синдром / острый миелоидный лейкоз (МДС/ОМЛ) [6]. Рефрактерное течение АА диагностируют в случае отсутствия эффекта от проводимой комбинированной иммуносупрессивной терапии через 6 месяцев от начала лечения или после второго курса АТГ [5].

Информация, представленная в табл. 1, позволит сформулировать окончательный клинический диагноз.

Таблица 1. Лабораторные параметры, подлежащие углубленной оценке у больных АА

№	Исследования	Факторы для оценки
1	Общий анализ крови	Трехростковая цитопения, относительный лимфоцитоз. Анемия без ретикулоцитоза, макроцитоз возможен. Отсутствие дисплазии нейтрофилов, аномалий тромбоцитов, бластов, больших гранулярных лимфоцитов, «волосатых» лимфоцитов
2	Биохимический анализ крови	Концентрация креатинина и альбумина, активность ЛДГ, скорость клубочковой фильтрации, АЛТ, АСТ
3	Аутоиммунный скрининг	Ревматоидный фактор, антитела к двухцепочечной ДНК, антинуклеарный фактор

Таблица 1 (окончание). Лабораторные параметры, подлежащие углубленной оценке у больных АА

№	Исследования	Факторы для оценки
4	Иммунофенотипирование клеток периферической крови	Определение ПНГ-клона
5	Миелограмма (стерильный пунктат)	Снижение клеточности костного мозга, отсутствие бластоэ ($\leq 1,8\%$), нарушение соотношения ростков кроветворения (относительный лимфоцитоз). Отсутствие или значительное снижение количества мегакариоцитов. Отсутствие признаков дисмиелопоэза, возможны признаки дизэритропоэза
6	Трепанобиоптат (билатеральный)	Клеточность костного мозга $< 25\%$ (по отношению к возрастной норме), преобладание жирового костного мозга. Очаги интенсивного кроветворения с преобладанием эритропоэза. Отсутствие фиброза стромы. Отсутствие инфильтрации аномальными клетками. Аплазия костного мозга (преобладание жирового костного мозга в биоптате)
7	Цитогенетические исследования (стандартное, FISH)	Исключение хромосомных aberrаций, характерных для МДС, ДЭБ-тест / проба с митомycinом, отрицательные для приобретенной АА
8	Мониторинг показателей, ассоциированных с анемиями	V_{12} , фолиевая кислота, обмен железа (НТЖ, ОЖСС, трансферрин, сывороточный ферритин)
АЛТ — аланинаминотрансфераза; АСТ — аспаратаминотрансфераза; ДЭБ — диэпоксибутан; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; НТЖ — насыщение трансферрина железом; ОЖСС — общая железосвязывающая способность сыворотки; FISH — флуоресцентная гибридизация in situ.		

Пример формулировки окончательного клинического диагноза

Исходя из вышеперечисленных данных, приводим пример формулирования окончательного диагноза больного.

«Приобретенная апластическая анемия, тяжелая форма, протекающая с ПНГ-синдромом (дд.мм.гг). Состояние после курса АТГ (Атгам) (дд.мм.гг—дд.мм.гг). Состояние на фоне терапии циклоспорином (с дд.мм.гг). Рефрактерная форма (дд.мм.гг.)».

«Приобретенная апластическая анемия, нетяжелая форма (дд.мм.гг), протекающая без ПНГ-клона».

«Приобретенная апластическая анемия, сверхтяжелая форма (дд.мм.гг). Состояние после алло-ТГСК от родственного полностью совместимого донора от дд.мм.гг. Рецидив (дд.мм.гг)».

Сроки, порядок оценки ответа перед трансплантацией аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при апластической анемии

Оценку эффективности иммуносупрессивной терапии (то есть оценку ответа на лечение) проводят через 3–6 месяцев после курса терапии АТГ. Критерии ответа на иммуносупрессивную терапию перечислены в табл. 2 и 3.

Таблица 2. Критерии ответа на иммуносупрессивную терапию (НМИЦ гематологии) [7]

Показатели гемограммы	Клинико-гематологическое улучшение (отсутствие трансфузионной зависимости)	Частичная ремиссия	Полная ремиссия
Гемоглобин (г/л)	$\geq 80,0$	$\geq 100,0$	$\geq 120,0$
Нейтрофилы ($\times 10^9/\text{л}$)	$\geq 1,0$	$\geq 1,5$	$\geq 2,0$
Тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	$\geq 20,0$	$\geq 80,0$	$\geq 150,0$

Таблица 3. Международные критерии ответа на иммуносупрессивную терапию [8]

Ответ	Тяжелая АА	Нетяжелая АА
Нет ответа	Сохраняются критерии тяжелой АА	Сохраняются критерии нетяжелой АА
Частичный ответ	Отсутствие трансфузионной зависимости. Отсутствие критериев тяжелой АА	Отсутствие трансфузионной зависимости (если ранее была). Удвоение значения; <i>или</i> нормализация показателей как минимум по одной линии; <i>или</i> увеличение базовых показателей: содержания гемоглобина — более чем на 30 г/л; количества нейтрофилов — более чем на $0,5 \times 10^9/\text{л}$; количества тромбоцитов — более чем на $20 \times 10^9/\text{л}$
Полный ответ	Гемоглобин > 110 г/л, нейтрофилы $> 1,5 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоциты $> 150 \times 10^9/\text{л}$	Гемоглобин > 110 г/л, нейтрофилы $> 1,5 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоциты $> 150 \times 10^9/\text{л}$

При отсутствии ответа (табл. 3) или гематологического улучшения (табл. 2) через 3–6 месяцев от начала курса АТГ необходимо принятие решения о проведении повторного курса АТГ или алло-ТГСК от родственного донора, согласно алгоритму лечения больных АА [5, 9].

Сроки и порядок оценки ответа на терапию после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при приобретенной апластической анемии

Оценку эффективности алло-ТГСК проводят аналогичным образом с применением критериев ответа, представленных в табл. 2 и 3.

Смешанный химеризм часто выявляется при АА, но не требует терапевтического вмешательства в отсутствие цитопенического синдрома.

Редко у больных АА через 10—12 лет после алло-ТГСК от HLA-идентичного сиблинга развивается так называемая аплазия донорского типа. Это состояние определяется как аплазия костного мозга (протекающая с панцитопенией) при полном или смешанном донорском химеризме [9]. Учитывая, что это состояние выделяется лишь несколькими авторами, для его характеристики в НМИЦ гематологии используют общие критерии диагностики несостоятельности трансплантата, изложенные в соответствующей главе, так как двух-, трехростковая цитопения в условиях полного донорского химеризма является признаком первичной или вторичной гипофункции трансплантата. В случае цитопении на фоне смешанного химеризма описанная ситуация так и трактуется.

Порядок констатации прогрессии/рецидива после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при апластической анемии

Критерии рецидива АА после алло-ТГСК соответствуют таковым при констатации АА, то есть включают развитие трехростковой цитопении, аплазии костного мозга по данным гистологического исследования трепанобиоптата в отсутствие морфологических и цитогенетических проявлений МДС/ОМЛ [10].

Рецидив АА после алло-ТГСК, протекающей с ПНГ-клоном/синдромом, можно также мониторировать с помощью определения ПНГ-клона при развитии цитопенического синдрома или клинико-лабораторных проявлений гемолиза. Для этого необходим мониторинг ПНГ-клона в рутинные контрольные сроки.

Литература

1. Peffault de Latour R, Kulasekararaj A, Iacobelli S et al. Eltrombopag added to immunosuppression in severe aplastic anemia. *N Engl J Med* 2022; 386(1): 11—23. DOI: 10.1056/NEJMoa2109965.
2. Михайлова Е. А., Фидарова З. Т., Абрамова А. В. и др. Протокол программного лечения больных апластической анемией: комбинированная иммуносупрессивная терапия // Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови / под ред. В. Г. Савченко. М.: Практика, 2018. Т. 1. С. 213—230.
3. Bacigalupo A. Treatment strategies for patients with severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42(Suppl 1):S42—S44. DOI: 10.1038/bmt.2008.113.
4. Bacigalupo A, Giammarco S, Sica S et al. Bone marrow transplantation versus immunosuppressive therapy in patients with acquired severe aplastic anemia. *Int J Hematol* 2016; 104(2):168—174. DOI: 10.1007/s12185-016-2037-8.
5. Михайлова Е. А., Фидарова З. Т., Троицкая В. В. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению апластической анемии (редакция 2019 г.). Гематология и трансфузиология 2020; 65(2):208—226. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-2-208-226.
6. Sun L, Babushok DV. Secondary myelodysplastic syndrome and leukemia in acquired aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2020; 136(1):36—49. DOI: 10.1182/blood.2019000940.
7. Михайлова Е. А. Протокол программного лечения больных апластической анемией: комбинированная иммуносупрессивная терапия // Программное лечение заболеваний системы крови / под ред. В. Г. Савченко. М.: Практика, 2012. С. 135—150.
8. Killick SB, Carter C, Culligan D et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2014; 164(4):503—525. DOI: 10.1111/bjh.12694.
9. de Latour RP, Risitano A, Dufour C. Severe aplastic anemia and PNH. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M et al. (editors). *The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies*. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019. Chapter 77. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5_77.
10. Ghosh K. Donor-type aplasia after stem cell transplantation in aplastic anaemia: Current understanding and intervention. *J Postgrad Med* 2021; 67(4):196—197. DOI: 10.4103/jpgm.JPGM_64_21.

Глава 8.

Миелодиспластические синдромы

Общие положения

Миелодиспластические синдромы (МДС) — гетерогенная группа клональных заболеваний системы кроветворения, для которых характерно наличие дисплазии в клетках миелопоэза, цитопения разной степени выраженности и высокий риск трансформации в острый лейкоз. МДС преимущественно диагностируют у пациентов старше 60 лет. Современные терапевтические подходы в лечении МДС позволяют добиться полной клинико-гематологической ремиссии, гематологического улучшения, стабилизации заболевания и улучшения качества жизни. Достижение биологического излечения возможно после выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Этот метод лечения применяется преимущественно у пациентов в возрасте до 60—65 лет из группы высокого риска МДС, для пациентов из группы низкого риска вопрос о выполнении алло-ТГСК решается индивидуально, в частности при наличии признаков прогрессии заболевания, обнаружении аномалий кариотипа из группы неблагоприятного прогноза, а также при отсутствии ответа на проводимую консервативную терапию. Внедрение низкодозных режимов кондиционирования позволило увеличить число пациентов МДС старше 60 лет, которым была выполнена алло-ТГСК [1].

При принятии решения о возможности выполнения алло-ТГСК пациентам с МДС необходимо учитывать: вариант заболевания, принадлежность к группе риска по пересмотренной международной прогностической скрининговой шкале (revised international prognostic scoring system, IPSS-R), наличие неблагоприятных молекулярно-генетических маркеров и цитогенетических aberrаций, фиброза стромы костного мозга, признаков прогрессии и вторичной перегрузки железом. Немаловажным фактором является наличие сопутствующих заболеваний, особенно по поводу которых ранее проводилась химио- и/или лучевая терапия, приведшая к развитию МДС.

Для верификации диагноза МДС, а также определения эффективности проводимой терапии необходимо оценивать гематологический статус на основании следующих параметров, представленных в табл. 1 [1].

Таблица 1. Лабораторно-инструментальные исследования, необходимые для определения варианта МДС и эффективности терапии

№	Исследование	Анализируемые показатели
1	Общий анализ крови	Гемоглобин, эритроциты, ретикулоциты, лейкоциты и лейкоцитарная формула, тромбоциты
2	Биохимический анализ крови	Общий белок и его фракции, мочевины, креатинин, билирубин и его фракции, трансаминазы, ЛДГ
3	Обмен железа	Сывороточное железо, ферритин, трансферрин, насыщение трансферрина железом, общая и латентная железосвязывающие способности сыворотки
4	Миелограмма	Количественный и качественный состав костного мозга (КМ), наличие и выраженность признаков дисмиелопоэза
5	Определение количества сидеробластов	Определение количества кольцевых сидеробластов в КМ
6	Трепанобиоптат	Определение клеточности КМ и наличия фиброза стромы, наличие признаков дисмиелопоэза
7	Иммунофенотипирование костного мозга	Определение иммунофенотипической характеристики бластных клеток или наличие признаков дисмиелопоэза
8	Иммунофенотипирование периферической крови	Определение наличия ПНГ-клона
9	Цитогенетическое исследование костного мозга	Определение кариотипа и наиболее значимых аномалий методом FISH [$-7/7q-$, $5q-$, $17p-$, $inv(3q)/t(3;3)$]
10	Молекулярно-генетическое исследование	Мутации в генах <i>TP53</i> , <i>SF3B1</i> , <i>TET2</i> , <i>DNMT3A</i> , <i>ASXL1</i> , <i>RUNX1</i> и др.
11	УЗИ брюшной полости	Размеры печени, селезенки, лимфатических узлов
12	МРТ печени, сердца в режиме T2*	Определение степени перегрузки железом печени и сердца
КМ — костный мозг; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; МРТ — магнитно-резонансная томография; ПНГ — пароксизмальная ночная гемоглобинурия; УЗИ — ультразвуковое исследование.		

На основании данных обследования формируется клинический диагноз в соответствии с критериями ВОЗ 2017 или 2022 гг. и определяется группа риска по пересмотренной международной прогностической скрининговой шкале (IPSS-R) [2], в перспективе — по молекулярной международной прогностической скрининговой шкале (IPSS-M) [3]. Прогностические факторы по IPSS-R и их балльное соответствие представлено в табл. 2 [2]. Указанная прогностическая шкала позволяет оценивать группу риска на каждом этапе развития болезни (на момент верификации, при прогрессии и рецидиве заболевания). При достижении ремиссии МДС группа риска не пересчитывается в сторону ее улучшения.

Таблица 2. Пересмотренная международная прогностическая скрининговая шкала (IPSS-R)

Прогностические факторы	Баллы					
	0	0,5	1	1,5	2	3
Кариотип (CCSS) ^a	Очень хороший	—	Хороший	—	Промежуточный	Плохой
Бластные клетки в КМ, %	≤ 2	—	> 2, но < 5	—	5—10	> 10
Гемоглобин, г/л	≥ 100	—	80—100	< 80	—	—
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л	≥ 100	50—99	< 50	—	—	—
Нейтрофилы, абс., × 10 ⁹ /л	≥ 0,8	< 0,8	—	—	—	—
^a Цитогенетика — группы прогноза по CCSS: • очень хороший — -Y, 11q-; • хороший — норма, 5q-, 12p-, 20q-, двойные с 5q-; • промежуточный — 7q-, +8, +19, i(17q) и другие одиночные и двойные аномалии; • плохой — -7, inv(3)/t(3q)/3q-, двойные с -7/7q-, комплексные (3) абберации; • очень плохой — комплексные (> 3) абберации. CCSS (Comprehensive Cytogenetic Scoring System) — система комплексной цитогенетической оценки.						
Группы риска и медиана предполагаемой продолжительности жизни:						
Риск	Общее количество баллов	Медиана продолжительности жизни, годы		Вероятность прогрессии в ОМЛ у 25% пациентов, годы		
Очень низкий	≤ 1,5	8,8		—		
Низкий	2,0—3,0	5,3		10,8		
Промежуточный	3,5—4,5	3,0		3,2		
Высокий	5,0—6,0	1,6		1,4		
Очень высокий	> 6,0	0,8		0,7		

Сроки, порядок оценки ответа перед трансплантацией аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при миелодиспластических синдромах

МДС— одни из немногих заболеваний, при которых алло-ТГСК может быть выполнена без предшествующей терапии при количестве бластных клеток в костном мозге менее 10%. При проведении специфической терапии МДС ее эффективность оценивают в соответствии с критериями международной рабочей группы (IWG 2006), которые представлены в табл. 3 [4].

Таблица 3. Критерии достигнутого ответа при проведении терапии пациентам с МДС

Категория ответа	Критерии ответа	
	Костный мозг	Периферическая кровь
Полная клинико-гематологическая ремиссия (продолжительность > 4 недели)	Бластные клетки < 5%, нормальное созревание всех клеточных линий, может персистировать дисплазия	Hb $\geq$ 110 г/л, тромбоциты > 100×10^9 /л, АЧН > $1,0 \times 10^9$ /л
Частичная ремиссия	Бластные клетки снизились на 50% и более, но их количество > 5%	Hb $\geq$ 110 г/л, тромбоциты > 100×10^9 /л, АЧН > $1,0 \times 10^9$ /л
Костномозговая ремиссия	Бластные клетки $\leq$ 5%, их количество снизилось на 50% и более от исходных значений	Нет восстановления показателей крови
Гематологическое улучшение (ответ должен сохраняться > 8 недель)	При восстановлении показателей периферической крови оценивают наличие гематологического улучшения в течение $\geq$ 8 недель	
Эритроидный ответ (при Hb < 110 г/л)		Повышение Hb на 15 г/л и более, снижение количества перелитых доз донорских эритроцитов на 4 единицы в течение 8 недель при Hb $\leq$ 90 г/л
Тромбоцитарный ответ (при количестве тромбоцитов < 100×10^9 /л)		При количестве тромбоцитов < 20×10^9 /л, повышение их количества > 20×10^9 /л и не менее, чем на 100%. При количестве тромбоцитов > 20×10^9 /л повышение их количества > 30×10^9 /л
Нейтрофильный ответ (при АЧН < 1×10^9 /л)		Увеличение АЧН более $0,5 \times 10^9$ /л по сравнению с исходными значениями в 2 раза и более

Таблица 3 (окончание). Критерии достигнутого ответа при проведении терапии пациентам с МДС

Категория ответа	Критерии ответа	
	Костный мозг	Периферическая кровь
Стабилизация	Отсутствие частичной ремиссии и признаков прогрессирования в течение > 8 недель	
Цитогенетическая ремиссия	Полная; восстановление нормального кариотипа и отсутствие новых aberrаций. Частичная; уменьшение количества клеток с цитогенетическими aberrациями на 50% и более	
АЧН — абсолютное число нейтрофилов; Нб — уровень гемоглобина.		

При направлении пациента на алло-ТГСК в окончательном диагнозе необходимо отражать достигнутый эффект и всю терапию, проведенную по поводу МДС.

При достижении полной клинико-гематологической ремиссии у пациентов с МДС с избытком blastов целесообразно оценить, методом иммунофенотипирования (ИФТ), наличие минимальной остаточной болезни (МОБ).

Вероятность достижения ответа при различных терапевтических подходах у пациентов с МДС составляет 60—70%, при этом полные ремиссии достигаются в 20—30% случаев. Необходимо отметить, что течение МДС нередко сопровождается прогрессией в МДС высокого риска или в ОМЛ. Прогрессия заболевания может развиваться в любой период наблюдения, как на фоне проводимой терапии, так и без нее. Критерии прогрессии и рецидива МДС представлены в табл. 4.

Таблица 4. Прогрессия и рецидив МДС в соответствии с критериями международной рабочей группы (IWG 2006) [4]

Неблагоприятное событие	Критерии неблагоприятного события
Прогрессия МДС	1. Увеличение количества БК более чем на 50%: при количестве БК < 5% — увеличение > 5%; при количестве БК 5—10% — увеличение > 10%; при количестве БК 10—19% — увеличение > 20%. 2. Наличие одного из следующих критериев: снижение количества лейкоцитов или тромбоцитов на 50% и более; снижение Нб на ≥ 20 г/л; появление трансфузионной зависимости
Рецидив МДС, после полной или частичной ремиссии (наличие одного из критериев)	1. Количество БК вернулось к исходному значению. 2. Снижение на $\geq 50\%$ от максимального количества гранулоцитов и тромбоцитов во время ремиссии/ответа. 3. Снижение Нб на ≥ 15 г/л или появление трансфузионной зависимости

Таблица 4 (окончание). Прогрессия и рецидив МДС в соответствии с критериями международной рабочей группы (IWG 2006) [4]

Неблагоприятное событие	Критерии неблагоприятного события
Прогрессия или рецидив после гематологического улучшения	1. Снижение на $\geq 50\%$ от максимального количества гранулоцитов и тромбоцитов. 2. Снижение Hb на ≥ 15 г/л. 3. Появление или усугубление трансфузионной зависимости
БК — бластные клетки; Hb — уровень гемоглобина.	

Если рецидив или прогрессия МДС развивается перед алло-ТГСК, то это также необходимо отражать в окончательном диагнозе.

Пример формулирования окончательного клинического диагноза

На основании результатов обследования формируется окончательный диагноз с указанием всех особенностей заболевания, включая ранее проводимую терапию, вариант достижения ответа, а при развитии рецидива или прогрессии — вариант прогрессии.

При направлении на алло-ТГСК без предшествующей специфической терапии:

- «МДС с мультилинейной дисплазией и комплексным кариотипом, протекающий с фиброзом стромы 2-й степени. Высокий риск по IPSS-R. Вторичная перегрузка железом средней степени тяжести»; или
- «МДС с избытком бластов 2. Очень высокий риск по IPSS-R»; или
- «МДС с мультилинейной дисплазией и гипоплазией кроветворения. Промежуточный риск (4 балла) по IPSS-R».

При проведении терапии МДС и достижении ответа:

- «МДС с избытком бластов 2, протекающий с комплексным кариотипом. Состояние после 4 курсов терапии азациитидином. Костно-мозговая ремиссия с эритроидным и тромбоцитарным улучшением, частичная цитогенетическая ремиссия от 10.12.2023», или
- «МДС с кольцевыми сидеробластами и мультилинейной дисплазией, отсутствие ответа на терапию эритропоезином альфа и луспартерцептом. Промежуточный риск по IPSS-R. Низкая степень перегрузки железом на фоне хелаторной терапии».

При рецидиве или прогрессии заболевания:

- «МДС с избытком бластов 2. Высокий риск по IPSS-R. Полная клинико-гематологическая ремиссия от 01.11.2022, достигнутая после 4 курсов терапии децитабином. Рецидив МДС с избытком бластов 1,

протекающий с комплексным кариотипом от 01.09.2023. Очень высокий риск по IPSS-R»; или

- «МДС с изолированной делецией длинного плеча хромосомы 5. Полная клинико-гематологическая ремиссия на терапии леналидом от 15.03.2021. Прогрессия (21.11.2023) в МДС с избытком бластов 1, протекающем с del (5q) и моносомией 7. Высокий риск по IPSS-R».

Сроки и порядок оценки ответа после алло-ТГСК при МДС

Эффективность алло-ТГСК при МДС оценивают в соответствии с критериями IWG 2006 в те же сроки, что и химеризм (+30, +60, +90, +180-й дни, +1-й год и т. д.). Исследования костномозгового кроветворения (морфология, цитогенетика, молекулярно-генетическое и иммунофенотипическое исследования) позволяют оценить статус заболевания и необходимость проведения противорецидивной терапии. При развитии цитопении на любых сроках после алло-ТГСК также целесообразно выполнение всех исследований костного мозга.

Сроки и порядок оценки рецидива после алло-ТГСК при МДС

Частота рецидива МДС в течение первых 2—3 лет после алло-ТГСК колеблется от 20% до 50%. Из наиболее значимых факторов развития рецидива выделяют неблагоприятные аномалии кариотипа из группы высокого и очень высокого риска по IPSS-R, наличие моносомного кариотипа [6, 11] и обнаружение мутаций в генах *TP53*, *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL*, *NRAS*, *U2AF1* и др. [7, 10]. Проведение терапии до алло-ТГСК может способствовать селекции более устойчивых опухолевых клонов, из которых впоследствии и развивается рецидив МДС [8]. До 50% пациентов на момент рецидива имеют новые цитогенетические и молекулярные маркеры, которые нередко появляются в первоначальных клонах и свидетельствуют о клональной эволюции заболевания [8, 9].

Критерии рецидива МДС после трансплантации соответствуют представленным ранее в табл. 3, но основными признаками возврата болезни являются:

- 1) увеличение количества бластных клеток $> 5\%$ в костном мозге при морфологическом исследовании;
- 2) выявление при повторных исследованиях костного мозга морфологических признаков МДС, обнаруженных при первичной диагностике заболевания;

3) обнаружение аномалий кариотипа, выявляемых при первичной диагностике МДС.

Для пациентов, которым алло-ТГСК выполнялась при количестве бластных клеток более 5%, термин «рецидив» не подходит и более уместно говорить о персистенции бластных клеток, то есть о резистентности.

О рецидиве или резистентности после алло-ТГСК свидетельствует наличие опухолевых клеток, устойчивых к режиму кондиционирования. Главный критерий рецидива — повышение количества бластных клеток в костном мозге $> 5\%$, однако отсутствие превышения этого порога не означает отсутствие МОБ. В настоящее время остается нерешенный вопрос, каким методом оценивать МОБ при МДС. Частота несоответствия результатов определения МОБ у пациентов с МДС и острым миелоидным лейкозом с мультилинейной дисплазией (ОМЛ-МД) методами 10-цветной проточной цитофлуориметрии и кариотипирования/FISH, по данным Festuccia et al., составляет 22,2% [5]. Это можно объяснить ограниченной чувствительностью цитогенетических методов исследования, которые не обнаруживают ранее имевшиеся цитогенетические нарушения у пациентов с положительными результатами ИФТ. Возможен и противоположный результат, когда при положительных результатах цитогенетики/FISH МОБ, детектируемая методом ИФТ, не определялась, несмотря на высокую чувствительность этого метода, вероятно, вследствие отсутствия на бластных клетках определяемых иммунофенотипических маркеров. Ertz-Archambault et al. обнаружили новые цитогенетические клоны при исследовании костного мозга в 51% случаев за 2—3 месяца до развития развернутого рецидива миелоидных новообразований, включая МДС, или до появления морфологических признаков болезни [9]. Сохранение у пациентов после алло-ТГСК мутаций в генах *ASXL1*, *TET2*, *CBL* и *NRAS* сопровождается большей частотой рецидивов [12].

Диагностический алгоритм, направленный на раннее выявление МОБ и изучение всех особенностей рецидива или резистентного течения МДС после алло-ТГСК, должен включать в себя в сроки определения донорского химеризма, помимо морфологического исследования костного мозга, также стандартное кариотипирование с возможным подтверждающим FISH-исследованием, молекулярно-генетическое исследование и ИФТ бластных клеток. Определение МОБ методом ИФТ у пациентов с МДС, в отличие от ОМЛ, в настоящее время не является рутинной процедурой. Изучение возможностей детекции МОБ различными методами позволит определить чувствительность и специфичность каждого исследования, что улучшит диагностику рецидива на ранних стадиях и, возможно, повлияет на достижение наилучших результатов противорецидивной терапии.

Литература

1. Клинические рекомендации. Миелодиспластический синдром, 2020. URL: cr.minzdrav.gov.ru/schema/141_1?ysclid=lp0j8b2sz9561421480.
2. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012; 120(12):2454—2465.
3. Bernard E, Tuechler H, Greenberg PL et al. Molecular international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *NEJM Evid* 2022; 1(7). DOI: 10.1056/EVIDoa2200008.
4. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2006; 108(2):419—425.
5. Festuccia M, Deeg HJ, Gooley TA et al. Minimal identifiable disease and the role of conditioning intensity in hematopoietic cell transplantation for myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia evolving from myelodysplastic syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(7):1227—1233.
6. Koenecke C, Göhring G, Wreede L et al. Impact of the revised International Prognostic Scoring System, cytogenetics and monosomal karyotype on outcome after allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia evolving from myelodysplastic syndromes: a retrospective multicenter study of the European Society of Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica* 2015; 100(3):400—408.
7. Bejar R, Stevenson KE, Caghey B et al. Somatic mutations predict poor outcome in patients with myelodysplastic syndrome after hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2014; 32:2691—2698.
8. Jacoby MA, Duncavage EJ, Chang GS et al. Subclones dominate at MDS progression following allogeneic hematopoietic cell transplant. *JCI Insight* 2018; 3(5):e98962.
9. Ertz-Archambault N, Kosiorek H, Slack JL et al. Cytogenetic evolution in myeloid neoplasms at relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation: association with previous chemotherapy and effect on survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23:782—789.
10. Versluis J, Lindsley RC. Transplant for TP53-mutated MDS and AML: because we can or because we should? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2022; 2022(1):522—527.
11. Zeiser R, Beelen DW, Bethge W et al. Biology-driven approaches to prevent and treat relapse of myeloid neoplasia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25:128—140.
12. Fu Y, Schroeder T, Zabelina T et al. Postallogeneic monitoring with molecular markers detected by pretransplant next-generation or Sanger sequencing predicts clinical relapse in patients with myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Eur J Haematol* 2014; 92(3):189—194.

Д. А. Королева, Л. Г. Горенкова, Н. Г. Габеева,
А. К. Смольянинова, М. Ю. Дроков, Л. А. Кузьмина, Е. Е. Звонков

Глава 9.

Неходжкинские лимфомы

Вступление

Современные программы терапии агрессивных и индолентных неходжкинских лимфом (НХЛ) включают различные интенсивные протоколы индукционной химиотерапии (ХТ), в ряде случаев в комбинации с таргетными препаратами [1—5]. Для индолентных лимфом (лимфома из клеток мантии — ЛКМ, фолликулярная лимфома 1—3А цитологических типов — ФЛ, нодальные формы лимфомы из клеток маргинальной зоны — ЛКМЗ) в качестве консолидации ремиссии в первой линии терапии рекомендуется выполнение трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) [6]. При применении указанных подходов к терапии в большинстве случаев удается достичь длительных стойких ремиссий и даже излечения заболевания.

Принципиально важным является раннее выявление группы больных НХЛ с факторами неблагоприятного прогноза, для которых применение только стандартных схем противоопухолевой терапии и даже выполнение ауто-ТГСК не является эффективным. Наиболее значимым фактором неблагоприятного прогноза при НХЛ является обнаружение мутаций в гене *TP53*. С появлением современных таргетных препаратов и клеточной терапии добиться излечения стало возможным и в этой группе больных [6—8].

Рефрактерное течение заболевания или развитие раннего рецидива также характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом. Достижение второй ремиссии заболевания при применении стандартных противо-рецидивных программ ХТ в большинстве случаев не представляется возможным. Для этой когорты больных единственным эффективным подходом к терапии также является применение современных таргетных препаратов, моноклональных биспецифических антител и клеточной терапии.

Первым и наиболее изученным вариантом клеточной терапии является трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). В настоящее время алло-ТГСК включена в современные рекомендации по лечению рефрактерных/рецидивирующих (Р/Р) форм диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ), ФЛ, ЛКМ и Т-клеточных лимфом в основном в качестве терапии 3—4-й линии после ауто-ТГСК и CAR-T клеточной терапии [9].

На сегодняшний день применение CAR-T клеточной терапии доступно лишь небольшому проценту больных за пределами РФ, в связи с чем роль алло-ТГСК остается актуальной для больных НХЛ из группы высокого риска.

При принятии решения о выполнении алло-ТГСК в первой линии при НХЛ целесообразно учитывать молекулярно-генетические факторы прогноза (наличие мутаций в гене *TP53*) и статус заболевания (рецидив/рефрактерность после первой линии), а также возраст (до 65 лет) и наличие сопутствующей патологии. Перед выполнением алло-ТГСК в первой линии терапии необходимо достичь полной ремиссии (ПР), частичной ремиссии (ЧР) или стабилизации заболевания.

Пример формулирования окончательного клинического диагноза

Пример формулирования окончательного диагноза больного с В-клеточных НХЛ: В-клеточных НХЛ (ДВККЛ, ЛКМ, ФЛ, ЛКМ3), с поражением (перечисление локализаций), стадия по Анн-Арборской классификации, группа риска по международным прогностическим индексам (IPI, MIPI, FLIPI), с мутацией в гене *TP53* (при наличии) или рефрактерность/рецидив заболевания после ХТ по программе (перечисление курсов), статус заболевания на момент выполнения алло-ТГСК (ПР/ЧР, стабилизация, прогрессия/рефрактерность, рецидив).

Пример: Лимфома из клеток мантии, классический/бластоидный вариант, с поражением шейных, надключичных, подмышечных, внут-

ригрудных, внутрибрюшных лимфоузлов, селезенки, желудка, толстой кишки, костного мозга, 4-я стадия по Ann Arbor, группа высокого риска по МIP1 (6,7 балла), с мутацией в гене *TP53*. Состояние после 4 курсов химиотерапии по программе R-BAC/R-НА. Частичная ремиссия заболевания.

Пример формулирования окончательного диагноза больного с Т-клеточных НХЛ: Т-клеточных НХЛ (периферическая Т-клеточная лимфома, Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, гепатолиенальная Т-клеточная лимфома), с поражением (перечисление локализаций), стадия по Ann Arbor, группа риска по международным прогностическим индексам (IPI, PIT), рефрактерность/рецидив заболевания после ХТ по программе (перечисление курсов), статус заболевания на момент выполнения алло-ТГСК (полная/частичная ремиссия, стабилизация, прогрессия/рефрактерность, рецидив).

Пример формулирования окончательного диагноза больного с кожными формами Т-НХЛ: Т-НХЛ (грибовидный микоз, синдром Сезари), стадия по EORTS/ISCL (European Organization of Research and Treatment of Cancer / International Society for Cutaneous Lymphomas), рефрактерность/рецидив заболевания после ХТ по программе (перечисление курсов), статус заболевания на момент выполнения алло-ТГСК (полная/частичная ремиссия, стабилизация, прогрессия/рефрактерность, рецидив).

Пример: Анапластическая крупноклеточная АЛК-негативная лимфома, с поражением шейных, внутригрудных, внутрибрюшных лимфоузлов, селезенки, костного мозга, 4-я стадия по Ann Arbor, группа высокого риска по IPI. Состояние после 6 курсов СНОЕР, ауто-ТГСК. Ранний рецидив. Состояние после 4 курсов BV-ESGAR. Вторая полная ремиссия.

Сроки и порядок оценки ответа на терапию перед алло-ТГСК

Перед выполнением алло-ТГСК при НХЛ необходимо оценить эффективность проведенной индукционной терапии. Для оценки глубины ответа используют различные инструментальные и лабораторные обследования (табл. 1). Перед выполнением алло-ТГСК необходимо достичь ПР, ЧР или стабилизации заболевания.

Таблица 1. Сроки и порядок обследований больных НХЛ перед алло-ТГСК

Тип НХЛ	Вид исследования	Сроки выполнения
ДВККЛ/ФЛ 3В цитологического типа	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
Double-hit/triple-hit	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
Плазмобластная лимфома	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
Первичная медиастинальная лимфома	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
Лимфома Беркитта	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
ФЛ 1—3А цитологического типа	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
	Исследования костного мозга: FISH t 14;18 МОБ В-клеточная клональность	При восстановлении показателей гемограммы после последнего курса ХТ (2—3 недели от окончания последнего курса)
ЛКМ	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
	Исследования костного мозга: FISH t 11;14 МОБ В-клеточная клональность	При восстановлении показателей гемограммы после последнего курса ХТ (2—3 недели от окончания последнего курса)
Периферическая Т-клеточная лимфома	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
	Исследования костного мозга: ИФТ Т-клеточная клональность	При восстановлении показателей гемограммы после последнего курса ХТ (2—3 недели от окончания последнего курса)
Гепатолиенальная Т-клеточная лимфома	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
Первичные кожные лимфомы с распространенной стадией (EORTS/ISCL IIb—IV)	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ	+ 1 мес от последнего курса ХТ
	Исследования костного мозга: ИФТ Т-клеточная клональность	При восстановлении показателей гемограммы после последнего курса ХТ (2—3 недели от окончания последнего курса)
ИФТ — иммунофенотипирование; КТ — компьютерная томография; МОБ — минимальная остаточная болезнь; ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография; ФДГ — фтордезоксиглюкоза; double-hit — лимфома с перестройками двух генов: <i>c-MYC</i> + <i>BCL2</i> или <i>BCL6</i> ; FISH — флуоресцентная гибридизация in situ; triple-hit — лимфома с перестройками трех генов: <i>c-MYC</i> + <i>BCL2</i> + <i>BCL6</i> . Интерпретация данных ПЭТ/КТ: ПЭТ/КТ «-»: 1—3 балла; ПЭТ/КТ «+»: 4—5 баллов.		

Критерии ответа на терапию

Полная ремиссия

ПР устанавливается при соблюдении всех нижеперечисленных критериев: отсутствие клинических симптомов заболевания, ПЭТ/КТ — негативная картина (при отсутствии возможности выполнения ПЭТ/КТ — по данным КТ-исследования) и санация костного мозга при исходном вовлечении.

1. Полное исчезновение всех обнаруживаемых клинических признаков заболевания и связанных с заболеванием симптомов, если они присутствовали до терапии.
- 2а. У пациентов без ПЭТ/КТ до лечения или при 5 баллах по шкале Deauville по данным ПЭТ/КТ до терапии допускается остаточная масса после лечения любого размера, если она ПЭТ-негативна.
- 2б. У пациентов без ПЭТ/КТ до лечения или если результаты ПЭТ/КТ до лечения были отрицательными все лимфатические узлы и узловые образования должны регрессировать на КТ до нормального размера ($\leq 1,5$ см в наибольшем поперечном диаметре — для узлов $> 1,5$ см до терапии). Ранее пораженные узлы, размер которых составлял от 1,1 до 1,5 см по длинной оси и более 1,0 см по короткой оси до лечения, после лечения должны были уменьшиться до $\leq 1,0$ см по короткой оси.
3. Селезенка и/или печень, если они считались увеличенными до терапии на основании физикального обследования или КТ, не должны пальпироваться при физикальном обследовании и должны считаться нормальными по данным визуализирующих исследований.
4. Если до лечения в костном мозге выявлялось поражение — при повторной биопсии костный мозг должен быть санирован. Если морфологические данные сомнительные, должно быть проведено иммуногистохимическое исследование и проточная цитометрия.

Частичная ремиссия

1. Минимум на 50% уменьшение суммы произведения диаметров (SPD) до шести наиболее крупных узлов или узловых образований: они должны быть четко измеримы по крайней мере по двум перпендикулярным осям; по возможности они должны быть разных локализацией;
2. Не должно наблюдаться увеличения размеров других узлов, печени или селезенки. Узловые образования печени и селезенки должны

регрессировать на $\geq 50\%$ в их SPD или, для одиночных узлов, в наибольшем поперечном диаметре.

3. Оценка костного мозга не имеет значения для определения ЧР, если до лечения было выявлено поражение костного мозга. Пациенты, достигшие полного ответа по вышеуказанным критериям, но имеющие морфологическое поражение костного мозга, будут расценены как достигшие ЧР.
4. Не должно наблюдаться новых очагов заболевания.
5. Для пациентов без ПЭТ/КТ до лечения или при 5 баллах по шкале Deauville по данным ПЭТ/КТ до терапии — положительный результат ПЭТ/КТ после лечения по крайней мере в одном ранее пораженном участке.

Стабилизация заболевания

1. Положительные данные ПЭТ/КТ в предшествующих очагах заболевания без новых областей поражения на КТ или ПЭТ/КТ после лечения.
2. Отсутствие изменений в размере предыдущих поражений на КТ после лечения.

Сроки и порядок оценки ответа после алло-ТГСК при НХЛ

Оценка эффективности алло-ТГСК проводится через 1 месяц после выполнения по данным лабораторных и инструментальных исследований в случае, если у пациента перед алло-ТГСК не была достигнута полная ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия (табл. 2). Если у больного была достигнута полная ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия перед алло-ТГСК, необходимые обследования проводятся через 3 месяца.

Таблица 2. Сроки и порядок обследований больных после алло-ТГСК

Тип НХЛ	Статус до алло-ТГСК	Вид исследования	Сроки выполнения
ДВККЛ/ ФЛ 3В цитологического типа	ПР	ПЭТ/КТ с $^{18}\text{ФДГ}$	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с $^{18}\text{ФДГ}$	+ 1 мес после алло-ТГСК
Double-hit/ triple-hit	ПР	ПЭТ/КТ с $^{18}\text{ФДГ}$	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с $^{18}\text{ФДГ}$	+ 1 мес после алло-ТГСК
Плазмобластная лимфома	ПР	ПЭТ/КТ с $^{18}\text{ФДГ}$	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с $^{18}\text{ФДГ}$	+ 1 мес после алло-ТГСК

Таблица 2 (продолжение). Сроки и порядок обследований больных после алло-ТГСК

Тип НХЛ	Статус до алло-ТГСК	Вид исследования	Сроки выполнения
Первичная медиастинальная лимфома	ПР	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ	+ 1 мес после алло-ТГСК
Лимфома Беркитта	ПР	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ	+ 3 мес после алло-ТГСК
ФЛ 1—3А цитологического типа	ПР	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ Исследования костного мозга: FISH t 14;18 МОБ В-клеточная клональность	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ Исследования костного мозга: FISH t 14;18 МОБ В-клеточная клональность	+ 1 мес после алло-ТГСК
ЛКМ	ПР	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ Исследования костного мозга: FISH t 11;14 МОБ В-клеточная клональность	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ Исследования костного мозга: FISH t 11;14 МОБ В-клеточная клональность	+ 1 мес после алло-ТГСК
Периферическая Т-клеточная лимфома	ПР	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ	+ 1 мес после алло-ТГСК
Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз	ПР	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ Исследования костного мозга: ИФТ Т-клеточная клональность	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ Исследования костного мозга: ИФТ Т-клеточная клональность	+ 1 мес после алло-ТГСК
Гепатолиенальная Т-клеточная лимфома	ПР	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ	+ 3 мес после алло-ТГСК
	ЧР, СЗ	ПЭТ/КТ с ^{18}F ДГ	+ 1 мес после алло-ТГСК

Таблица 2 (окончание). Сроки и порядок обследований больных после алло-ТГСК

Тип НХЛ	Статус до алло-ТГСК	Вид исследования	Сроки выполнения
Первичные кожные лимфомы с распространенной стадией (EORTS/ISCL IIB—IV)	ПР	ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ Исследования костного мозга: ИФТ Т-клеточная клональность	+ 3 мес после алло-ТГСК
		ПЭТ/КТ с ¹⁸ ФДГ Исследования костного мозга: ИФТ Т-клеточная клональность	+ 1 мес после алло-ТГСК
ИФТ — иммунофенотипирование; КТ — компьютерная томография; МОБ — минимальная остаточная болезнь; ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография; СЗ — стабилизация заболевания; ФДГ — фтордезоксиглюкоза; double-hit — лимфома с перестройками двух генов: <i>c-MYC</i> + <i>BCL2</i> или <i>BCL6</i> ; FISH — флуоресцентная гибридизация in situ; triple-hit — лимфома с перестройками трех генов: <i>c-MYC</i> + <i>BCL2</i> + <i>BCL6</i> . Интерпретация данных ПЭТ/КТ: ПЭТ/КТ «-»: 1—3 балла; ПЭТ/КТ «+»: 4—5 баллов.			

Далее лабораторные исследования костного мозга по вышеперечисленному списку проводятся 1 раз в 3 месяца в течение 1-го года, 1 раз в 6 месяцев в течение 2-го года и далее 1 раз в год. ПЭТ/КТ-исследование выполняется 1 раз в год.

Констатация рецидива заболевания после алло-ТГСК на любом этапе медицинского обследования

Рецидив заболевания

1. Появление любого нового поражения более 1,5 см по любой оси во время или в конце терапии, даже если другие поражения уменьшаются в размерах. Повышенное поглощение ФДГ в ранее не затронутом участке следует считать рецидивом или прогрессирующим заболеванием только после подтверждения другими методами. У пациентов, не имевших в анамнезе легочной лимфомы, новые узелки в легких, выявленные с помощью КТ, в основном доброкачественные. Таким образом, решение о лечении не должно приниматься исключительно на основании ПЭТ без гистологического подтверждения.
2. По крайней мере 50%-ное увеличение SPD любых ранее пораженных лимфатических узлов или одного пораженного лимфатического

узла или размера других поражений (например, селезеночных или печеночных узлов). Чтобы считаться прогрессирующим заболеванием, лимфатический узел с диаметром по короткой оси менее 1,0 см должен увеличиться на $\geq 50\%$ и до размера $1,5 \times 1,5$ см или более 1,5 см по длинной оси.

3. Увеличение наибольшего диаметра любого отдельного ранее идентифицированного узла более чем на 1 см по его короткой оси не менее чем на 50%.
4. Поражения должны быть положительными при ПЭТ.

Литература

1. Габеева Н. Г., Королева Д. А., Татарникова С. А. и др. Промежуточные результаты терапии первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы по протоколам «PML-16» и «PML-19». Гематология и трансфузиология 2022; 67(3):328—350.
2. Королева Д. А., Звонков Е. Е., Габеева Н. Г. и др. Исследовательский протокол лечения лимфомы из клеток мантийной зоны у больных в возрасте до 65 лет // Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови / под ред. В. Г. Савченко. М.: Практика, 2018. Т. 2. С. 531—556.
3. Звонков Е. Е., Королева Д. А., Габеева Н. Г. и др. Высокодозная химиотерапия первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы центральной нервной системы. Промежуточные результаты протокола «CNS-2015». Гематология и трансфузиология 2019; 64(4):447—461.
4. Смольянинова А. К., Габеева Н. Г., Мамонов В. Е. и др. Первичные лимфомы костей: долгосрочные результаты проспективного одноцентрового исследования. Клиническая онкогематология 2019; 12(3):247—262. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-247-262.
5. Габеева Н. Г., Королева Д. А., Смольянинова А. К. и др. Химиотерапия по программе R-mNHL-BFM-90 в комбинации с леналидомидом как терапия первой линии у больных MUM1-позитивной диффузной В-крупноклеточной лимфомой и фолликулярной лимфомой 3В цитологического типа. Гематология и трансфузиология 2019; 64(2):150—164.
6. Королева Д. А., Габеева Н. Г., Кузьмина Л. А. и др. Негативное влияние мутаций в гене TP53 на эффективность терапии лимфомы из клеток мантии. Промежуточные результаты протокола «ЛКМ-2016». Гематология и трансфузиология 2019; 64(3):256—273. DOI:10.35754/0234-5730-2019-64-3-256-273.
7. Королева Д. А., Габеева Н. Г., Дроков М. Ю. и др. Первый опыт трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных лимфомой из клеток мантии с мутациями в гене TP53. Гематология и трансфузиология 2020; 65(4):483—500.
8. Звонков Е. Е., Королева Д. А., Габеева Н. Г. и др. Комбинация ибрутиниба и венетоклакса с последующей терапией Т-клетками с химерным антигенным рецептором в первой линии лечения у пожилого больного лимфомой

из клеток мантии с гиперлейкоцитозом и мутацией в гене TP53. Гематология и трансфузиология 2022; 67(3):441—452.

9. Munshi PN, Hamadani M, Kumar A et al. ASTCT, CIBMTR and EBMT clinical practice recommendations for transplant and cellular therapies in mantle cell lymphoma. Bone Marrow Transplant 2022; 56(12):2911—2921. DOI:10.1038/s41409-021-01288-9.
10. Singh V, Kim S, Deol A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in T-cell lymphoma: a meta-analysis. Leuk Lymphoma 2022; 63 (4):855—864.
11. Goyal A, O’Leary D, Foss F. Allogeneic stem cell transplant for treatment of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a systematic review and meta-analysis. Bone Marrow Transplant 2023 Oct 18. DOI: 10.1038/s41409-023-02122-0.

Глава 10.

Множественная миелома

Современная программа стандартного противоопухолевого лечения больных множественной миеломой (ММ) моложе 70 лет без тяжелых сопутствующих заболеваний включает в себя применение комбинации таргетных препаратов в сочетании с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) [1; 2].

Абсолютное большинство экспертных организаций, занимающихся изучением и лечением плазмоклеточных неоплазий, рассматривают алло-ТГСК при ММ в качестве клинической опции для селектированной потенциально курабельной группы больных с факторами неблагоприятного прогноза [3].

Следовательно, при принятии решения о выполнении алло-ТГСК при ММ целесообразно учитывать стадию заболевания (приоритет следует отдавать международной системе стадирования — ISS, а также ее пересмотренным версиям — R-ISS или R2-ISS), цитогенетические аномалии, выявленные при диагностике и/или при очередном рецидиве, количество циркулирующих плазматических клеток в дебюте заболевания, наличие и динамику костных и экстрамедуллярных плазмочитом, историю лечения с характеристикой достигнутого противоопухолевого ответа и описанием лекарственных препаратов (групп препаратов), к которым сформировалась рефрактерность.

Кроме того, настоятельно рекомендуется провести ревизию анамнеза, включая объективные, лабораторные и инструментальные данные, на основании которых был установлен диагноз ММ, с целью детального и скрупулезного уточнения прогностических факторов.

Информация, представленная в табл. 1, позволит сформулировать окончательный клинический диагноз, включающий группу риска и прогностические параметры.

Таблица 1. Лабораторные и инструментальные параметры субстрата опухоли, подлежащие углубленной оценке у больных ММ

№	Исследования	Факторы для оценки
1	Общий анализ крови	Концентрация гемоглобина, количество плазматических клеток, содержание тромбоцитов и лейкоцитов
2	Биохимический анализ крови	Концентрация креатинина и альбумина, активность ЛДГ, СКФ, концентрация β_2 -микроглобулина, концентрация кальция
3	Исследование секреции парапротеина методами электрофореза и иммунофлюоресценции в сыворотке крови и моче	Тип секретируемого белка и его концентрация, степень иммунопареза
4	СЛЦ иммуноглобулинов в сыворотке крови при неизмеряемом заболевании	Тип «вовлеченной» СЛЦ, концентрация, соотношение и разница «вовлеченной» и «невовлеченной» СЛЦ
5	Миелограмма	Количество и характеристика плазматических клеток
6	Трепанобиоптат	Гистологическая и иммуногистохимическая характеристика опухоли, индекс пролиферативной активности
7	Цитогенетическое исследование методом FISH	t(4;14), t(14;16), t(14;20), амплификация (1q21), del(17p)
8	Оценка распространенности костного поражения: низкодозная КТ, ПЭТ/КТ, МРТ всего тела	Наличие очагов деструкций костной ткани, наличие экстрамедуллярных компонентов и внутрикостных плазмодитом с указанием размеров

ЛДГ — лактатдегидрогеназа; КТ — компьютерная томография; МРТ — магнитно-резонансная томография; ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография; СКФ — скорость клубочковой фильтрации; СЛЦ — свободные легкие цепи.

Пример формулирования окончательного клинического диагноза

Исходя из вышеперечисленных данных, приводим пример формулирования окончательного диагноза больного: «Множественная миелома, протекающая с секрецией парапротеина Gк и свободных легких цепей κ , экскрецией белка Бенс-Джонса κ , распространенным остео-

деструктивным процессом, внутрикостными плазмочитами III ребра слева, правой подвздошной кости, крестца, III В стадия (Durie—Salmon), III стадия (ISS, R-ISS), группа высокого цитогенетического риска [t(4;14)], острое повреждение почек (СКФ = 10 мл/мин)».

Сроки, порядок оценки ответа на терапию перед алло-ТГСК при множественной миеломе

Оценка эффективности лечения ММ независимо от проводимого лечения, включения в программу терапии ауто- или алло-ТГСК проводится согласно международным критериям, предложенным в 2006 г. и модифицированным в 2011 и 2016 г. [4—6]. При вынесении окончательного заключения любое исследование нужно провести не менее двух раз для подтверждения результатов.

Оценка эффекта по уровню моноклонального белка в сыворотке крови и моче применима для пациентов с «измеряемой» болезнью. Заболевание считают «измеряемым» при концентрации М-протеина в сыворотке ≥ 10 г/л или в суточной моче ≥ 200 мг. При отсутствии моноклонального белка в сыворотке крови и моче по данным электрофореза и иммунофиксации «измеряемым» считают уровень «вовлеченных» СЛЦ иммуноглобулинов ≥ 100 мг/л. Соотношение κ/λ СЛЦ иммуноглобулинов также должно быть аномальным. Нормальное соотношение κ/λ СЛЦ иммуноглобулинов составляет 0,26—1,65. У пациентов с почечной недостаточностью нормальным соотношением κ/λ СЛЦ иммуноглобулинов считается 0,37—3,1.

В табл. 2 представлены критерии противоопухолевого ответа, разработанные и утвержденные международной рабочей группой по изучению ММ (IMWG) [6].

Таблица 2. Единые критерии противоопухолевого ответа у больных ММ согласно рекомендациям IMWG 2016 г.

Категория ответа	Критерии ответа
Строгий полный ответ / строгая полная ремиссия (сПР)	Полная ремиссия, как определено ниже, плюс нормальное соотношение СЛЦ в сыворотке. Отсутствие клональных клеток в костном мозге, подтвержденное иммуногистохимическим методом (соотношение $\kappa/\lambda \leq 4:1$ или $\geq 1:2$ у пациентов, экспрессирующих легкие цепи κ и λ , соответственно, после подсчета ≥ 100 плазматических клеток)
Полный ответ (ПО) / полная ремиссия (ПР) ¹	Отрицательные результаты иммунофиксации при исследовании сыворотки и мочи. Исчезновение плазмочитов. Менее 5% плазматических клеток в костном мозге

Таблица 2 (продолжение). Единые критерии противоопухолевого ответа у больных ММ согласно рекомендациям IMWG 2016 г.

Категория ответа	Критерии ответа
Очень хороший частичный ответ (ОХЧО) / очень хорошая частичная ремиссия (ОХЧР) ¹	Выявление М-компонента в сыворотке и моче методом иммунофиксации, но не методом электрофореза или снижение концентрации М-компонента в сыворотке на 90% или более плюс уровень М-компонента в моче < 100 мг за 24 ч
Частичный ответ (ЧО) / частичная ремиссия (ЧР)	Снижение содержания М-белка в сыворотке на 50% или более и уменьшение суточной экскреции М-белка с мочой на 90% или более либо до уровня менее 200 мг за 24 ч. Если М-белок в сыворотке и моче не определяется, то вместо критериев, основанных на содержании М-белка, требуется снижение разницы между концентрациями «вовлеченных» и «невовлеченных» СЛЦ на 50% или более. Если М-белок в сыворотке и моче, а также СЛЦ в сыворотке не выявлялись, то вместо критериев, основанных на содержании М-белка, требуется уменьшение количества плазматических клеток в костном мозге на 50% или более при условии, что исходное количество плазматических клеток составляло $\geq 30\%$. Помимо вышеупомянутых критериев, если исходно имелись плазмоцитомы, то необходимо уменьшение их размера (суммарного значения максимальных перпендикулярных диаметров измеряемых очагов) ² на 50% или более
Минимальный ответ (МО)	Снижение концентрации сывороточного М-белка на 25—49% и снижение суточной экскреции М-белка с мочой на 50—89%. Помимо вышеуказанных параметров, если исходно имелись плазмоцитомы, требуется также уменьшение их размера на 50% и более (суммарное значение максимальных перпендикулярных диаметров измеряемых очагов) ²
Стабилизация заболевания (СЗ) ³	Результаты лечения не соответствуют ни критериям полной ремиссии, ни критериям очень хорошей частичной и частичной ремиссии, ни критериям минимального ответа, ни критериям прогрессирования заболевания

¹ У пациентов с «измеряемым» заболеванием, у которых достижение ПР или ОХЧР подтверждается только наличием СЛЦ в сыворотке, ПР определяется в случае нормального соотношения СЛЦ (0,26—1,65) в дополнение к вышеупомянутым критериям ПР; ОХЧР определяется как снижение разницы концентрации «вовлеченных» и «невовлеченных» СЛЦ более чем на 90%.

Все категории ответа (ПР, сПР, ОХЧР и ЧР) требуют двух последовательных измерений, проведенных в любое время до назначения любой новой терапии. Категории ПР, ЧР, СЗ не требуют рентгенографического подтверждения отсутствия прогрессирования костных очагов или появления новых костных очагов. Все категории ответа, за исключением СЗ, будут считаться неподтвержденными до проведения повторного исследования. Дата выполнения первого исследования считается датой ответа для определения конечной точки, например, длительности ответа.

Для пациентов, достигших ОХЧР по основным критериям, при наличии плазмоцитом необходимо также уменьшение их размера на 90% и более (суммарное значение максимальных перпендикулярных диаметров измеряемых очагов).

Таблица 2 (окончание). Единые критерии противоопухолевого ответа у больных ММ согласно рекомендациям IMWG 2016 г.

² Измерение размеров плазмцитом должно проводиться с использованием КТ (при проведении ПЭТ/КТ) или МРТ, когда это применимо. Для пациентов с вовлечением кожи кожные очаги измеряются с помощью линейки. Размеры определяются как сумма максимальных перпендикулярных диаметров.

³ Не рекомендуется применять в качестве индикатора ответа на лечение.

При миеломе, «измеряемой» только по концентрации СЛЦ иммуноглобулинов, следует выделить дополнительные критерии:

- для установления ПР необходимо нормальное соотношение СЛЦ иммуноглобулинов κ/λ (0,26—1,65);
- сПО устанавливается при нормальном соотношении СЛЦ иммуноглобулинов и отсутствии клональных плазматических клеток в костном мозге по данным иммуногистохимического или иммунофлуоресцентного методов;
- для констатации ОХЧР требуется снижение отношения концентрации «вовлеченных» и «невовлеченных» СЛЦ иммуноглобулинов на 90% и более;
- ЧР устанавливается при снижении разницы концентрации «вовлеченных» и «невовлеченных» СЛЦ иммуноглобулинов на 50%;
- СЗ — несоответствие показателей критериям ПР, ОХЧР, ЧР или прогрессирования миеломы.

Учитывая результаты исследований, продемонстрировавших высокую частоту достижения ПО при лечении больных ММ комбинациями инновационных лекарственных препаратов и включении в программу лечения ауто-ТГСК, были определены дополнительные критерии ответа для пациентов, достигающих полного противоопухолевого ответа. Эти критерии базируются на определении минимальной остаточной болезни (МОБ) методами проточной цитометрии, секвенирования нового поколения и ПЭТ/КТ. Следует принимать во внимание, что указанные тесты целесообразно выполнять только при достижении как минимум ПО после проведенной программы лечения. Критерии МОБ-негативного ответа, разработанные IMWG, представлены в табл. 3.

Таблица 3. Критерии МОБ-негативной ремиссии у больных ММ, утвержденные IMWG в 2016 г.

Категория ответа	Критерии ответа
Устойчивая МОБ-негативная ремиссия	МОБ-негативность в костном мозге, доказанная методом секвенирования нового поколения и/или проточной цитометрии нового поколения и методом ПЭТ/КТ, сохраняющаяся в течение 1 года и более

Таблица 3 (окончание). Критерии МОБ-негативной ремиссии у больных ММ, утвержденные IMWG в 2016 г.

Категория ответа	Критерии ответа
МОБ-негативная ремиссия, подтвержденная методом иммунофенотипирования	Отсутствие фенотипических аберрантных клональных плазматических клеток в костном мозге, определенных с помощью проточной цитометрии нового поколения с использованием стандартной процедуры EuroFlow для обнаружения МОБ при ММ (или одобренного эквивалентного метода) с минимальной чувствительностью 1×10^5 ядродержащих клеток или выше
МОБ-негативная ремиссия, подтвержденная методом секвенирования	Отсутствие клональных плазматических клеток в костном мозге, определяемых методом секвенирования нового поколения с использованием платформы LymphoSIGHT (или одобренного эквивалентного метода) с минимальной чувствительностью 1×10^5 ядродержащих клеток или выше
МОБ-негативная ремиссия, подтвержденная методом иммунофенотипирования и ПЭТ/КТ или методом секвенирования и ПЭТ/КТ	МОБ-негативность в костном мозге, доказанная методом секвенирования нового поколения или проточной цитометрии нового поколения, и исчезновение каждой области повышенного поглощения ^{18}F -FDG, обнаруженного на исходной или предыдущей ПЭТ/КТ, либо снижение метаболической активности, измеренной значением стандартизированного накопления до уровня менее, чем в средостении или окружающих нормальных тканях

Сроки и порядок оценки ответа после алло-ТГСК при множественной миеломе

Оценка эффективности алло-ТГСК проводится аналогичным образом с применением критериев IMWG 2016 г., представленных в табл. 2 и 3.

Вместе с тем стандартными сроками оценки ответа считаются +30, +60 и +90-й дни после алло-ТГСК, в последующем целесообразно исследовать парапротеин каждые три месяца до завершения наблюдения или перехода на следующую линию лечения.

Оценка костномозгового кроветворения (динамика химеризма, минимальной остаточной болезни) целесообразна в ранние сроки после алло-ТГСК (+30, +60, +90, +180-й дни), в последующем ее следует проводить при констатации иммунохимического рецидива/прогрессии в случае «измеряемого» заболевания или нарастающей цитопении, косвенно свидетельствующей об отторжении трансплантата.

Результаты немногочисленных собственных наблюдений демонстрируют постепенное углубление противоопухолевого ответа у больных ММ, перенесших алло-ТГСК, совпадающее с полной отменой иммуносупрессивной терапии и полноценной реализацией эффекта «трансплантат против миеломы». В ряде наблюдений достижение полного ответа констатировалось спустя 6 месяцев после выполнения алло-ТГСК [7].

Порядок констатации прогрессии/рецидива после алло-ТГСК при множественной миеломе

Выделяют иммунохимический и клинический рецидив ММ. Концептуально термин «рецидив миеломы» следует применять при возобновлении секреции парапротеина или появлении других признаков, указанных в табл. 4, после подтверждения достижения полного ответа. Термин «прогрессия» заболевания употребляется при появлении аналогичных симптомов, но у больных, не достигших на предшествующем этапе как минимум полного ответа.

Для пациентов с болезнью, «не измеряемой» стандартными иммунохимическими методами, но «измеряемой» только по концентрации СЛЦ иммуноглобулинов, прогрессирование устанавливается при увеличении разницы между «вовлеченными» и «невовлеченными» СЛЦ иммуноглобулинов на 100 мг/л. Также о прогрессировании свидетельствуют увеличение числа плазматических клеток в костном мозге (не менее 10%), появление новых очагов в костях или увеличение размеров ранее определяемых, появление мягкотканых плазмочитом или увеличение их размеров, гиперкальциемия (скорректированный уровень кальция сыворотки $> 11,5$ мг/дл или $2,75$ ммоль/л), которую можно связать с плазмоклеточной пролиферацией.

Таблица 4. Критерии прогрессии и рецидива ММ, утвержденные IMWG в 2016 г.

Прогрессирование заболевания ^{1, 2}	Наличие одного или более из перечисленных критериев — повышение показателя на 25%, считая от самого низкого подтвержденного значения: - М-компонента в сыворотке (абсолютное повышение должно составлять ≥ 5 г/л); - М-компонента в сыворотке на ≥ 10 г/л, если самое низкое значение было ≥ 50 г/л; - М-компонента в моче (абсолютное повышение должно составлять ≥ 200 мг за 24 ч. Для пациентов с «неизмеряемыми» концентрациями М-белка в сыворотке или моче: - изменение разницы между концентрацией «вовлеченных» и «невовлеченных» СЛЦ (абсолютное повышение должно составлять > 100 мг/л). Для пациентов с «неизмеряемыми» уровнями М-белка в сыворотке или моче и отсутствием измеряемых вовлеченных СЛЦ: - абсолютное увеличение плазматических клеток в костном мозге $\geq 10\%$, вне зависимости от их исходного значения. Появление новых очагов, увеличение размеров (суммы максимальных перпендикулярных диаметров)³ более чем на 50% от минимального значения по крайней мере одного очага, или увеличение наибольшего диаметра старого очага более чем на 50% при его исходных размерах > 1 см по минимальной оси.

Таблица 4 (окончание). Критерии прогрессии и рецидива ММ, утвержденные IMWG в 2016 г.

Прогрессирование заболевания ^{1, 2}	Увеличение числа циркулирующих плазматических клеток более чем на 50% (минимально на 200 клеток/мкл), если это единственное проявление заболевания
Клинический рецидив	Клинический рецидив характеризуется одним или более из признаков, подтверждающих распространение болезни и/или наличие органных недостаточности (признаки CRAB), связанной с пролиферацией клональных плазматических клеток. Развитие новых мягкотканых плазмочитом или костных очагов (остеопоретические переломы не являются признаком прогрессирования). Подтвержденное увеличение размера существующих плазмочитом или костных очагов, то есть увеличение размеров (суммы максимальных перпендикулярных диаметров)^{2, 3} более чем на 50% (и не менее чем на 1 см). Гиперкальциемия (> 11мг/дл или 2,75 ммоль/л). Снижение концентрации гемоглобина более чем на 20 г/л, не связанное с терапией или другими причинами. Повышение концентрации креатинина в сыворотке до 2 мг/дл или более 177 мкмоль/л после начала терапии и связанное с миеломой. Синдром повышенной вязкости крови
Рецидив после полной ремиссии (после ПР) ²	Наличие одного или более из следующих признаков: Повторное появление М-белка в сыворотке или моче, обнаруженное методом иммунофиссации или электрофореза. Выявление в костном мозге 5% и более плазматических клеток⁴. Появление любого другого признака прогрессирования (например, новых плазмочитом, литических костных очагов или гиперкальциемии)
Рецидив после МОБ-негативной ремиссии ²	Наличие одного или более из следующих признаков: Утеря МОБ-негативности (подтверждение наличия клональных плазматических клеток методом секвенирования нового поколения или с помощью проточной цитометрии нового поколения или возврата миеломы с использованием чувствительных методов визуализации). Повторное появление М-белка в сыворотке или моче, обнаруженное методом иммунофиссации или электрофореза. Выявление в костном мозге $\geq 5\%$ плазматических клеток⁴. Появление любого другого признака прогрессирования (например, новых плазмочитом, литических костных очагов или гиперкальциемии)
¹ Нет необходимости контрольного исследования костного мозга. ² Все категории рецидива требуют двух последовательных измерений, проведенных в любое время до назначения любой новой терапии. ³ Для расчета времени до прогрессирования и выживаемости без прогрессирования пациенты с полной ремиссией также должны оцениваться по вышеуказанным критериям на предмет прогрессирования болезни. ⁴ Рецидив после полной ремиссии характеризуется повышением содержания плазматических клеток в костном мозге более 5%, в то время как для других категорий рецидива — более 10%.	

Литература

1. Dimopoulos MA, Moreau P, Terpos E et al. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2021; 32(3):309—322. DOI: 10.1016/J.ANNONC.2020.11.014.
2. Dhakal B, Szabo A, Chhabra S et al. Autologous transplantation for newly diagnosed multiple myeloma in the era of novel agent induction a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncol* 2018; 4(3):343—350. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.4600.
3. Snowden JA, Sánchez-Ortega I, Corbacioglu S et al. Indications for haematopoietic cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2022. *Bone Marrow Transplant* 2022; 57(8): 1217—1239. DOI: 10.1038/s41409-022-01691-w.
4. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006; 20(9):1467—1473. DOI: 10.1038/sj.leu.2404284.
5. Rajkumar SV, Harousseau JL, Durie B et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: Report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011; 117(18):4691—4695. DOI: 10.1182/blood-2010-10-299487.
6. Kumar S, Paiva B, Anderson KC et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016; 17(8):e328—e346. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30206-6.
7. Фирсова М. В., Менделеева Л. П., Паровичникова Е. Н. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток пациентам с множественной миеломой. *Терапевтический архив* 2021; 93(7):778—784. DOI: 10.26442/00403660.2021.07.200929.

Глава 11.

Миелофиброз (первичный, постполицитемический, посттромбоцитемический)

Общие сведения

Прежде всего следует различать заболевания первичный миелофиброз (ПМФ), миелофиброз, возникший в результате прогрессирования/трансформации истинной полицитемии (ИП) или эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), и морфологический термин «миелофиброз», который характеризует фиброз стромы костного мозга с вытеснением элементов гемопоэза, встречается как при новообразованиях, так и при неопухолевой патологии [1, 2]. ПМФ — это хроническое Rh-негативное миелопролиферативное новообразование (МПН), которое характеризуется нарушениями клеточной структуры, гистоархитектоники и стромы костного мозга, спленомегалией, экстрамедуллярным гемопоэзом. Источником опухолевого роста является клональное расстройство полипотентной гемопоэтической стволовой клетки [1, 2]. Постполицитемический миелофиброз развивается вследствие прогрессирования ИП, а посттромбоцитемический — вследствие прогрессирования ЭТ [1, 2]. Тактика лечения пациентов с миелофиброзом и ПМФ не различается.

Целями терапии миелофиброза являются контроль болезни [предупреждение прогрессирования, увеличение общей выживаемости (ОВ)]; облегчение симптоматики; предупреждение осложнений в случае беременности, хирургических операций [1].

Выбор метода лечения зависит от отнесения пациента в группу риска в соответствии с прогностическими индексами, в первую очередь MIPSS70+v2 (см. табл. 2), сопутствующих заболеваний, от наличия совместимых по системе HLA доноров и возможности выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [2, 3].

Алло-ТГСК является единственным вариантом лечения, потенциально излечивающим или приводящим к длительной ремиссии у пациентов с миелофиброзом высокого или очень высокого риска [4, 5]. Окончательный клинический диагноз с определением группы риска может быть сформулирован только после всестороннего обследования пациентов (табл. 1) [2, 3, 6].

Таблица 1. Объем обследования пациентов с подозрением на МПН

№	Исследования	Факторы для оценки
1	Сбор анамнеза и жалоб	Уточнение национальности, семейного анамнеза, тромбозов в анамнезе, курения, сопутствующих заболеваний с целью определения необходимости проведения дополнительных диагностических мероприятий
2	Опросник МПН-10	Оценка конституциональных симптомов
3	Проведение визуального осмотра терапевтического, пальпации терапевтической, перкуссии, аускультации терапевтической	Следует обратить внимание на окраску кожи лица, ладоней, стоп, видимых слизистых (бледные кожные покровы и слизистые могут являться симптомом анемии, плетора может свидетельствовать о повышенной концентрации гемоглобина, гематокрита), кожи нижних конечностей (гиперемия, пигментация, трофические расстройства, отеки, геморрагии); пальпация и перкуссия печени и селезенки, оценка состояния легких, сердца, желудочно-кишечного тракта, почек являются обязательными
4	Общий (клинический) анализ крови развернутый	Дифференциальный подсчет клеток крови, исследование морфологии, определение СОЭ, просмотр мазка крови для анализа аномалий морфологии эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов
5	Коагулограмма	Ориентировочное исследование системы гемостаза, определение протромбинового (тромбопластинного) времени в крови или плазме для оценки риска тромботических и геморрагических осложнений
6	Определение полиморфизмов генов тромбофилии	Молекулярно-генетическое исследование мутаций в генах <i>F2 20210</i> , <i>F2 Thr165 Met</i> , <i>F5</i> (Лейден)
7	Анализ крови биохимический общетерапевтический	Мочевая кислота, ЛДГ, СРБ, показатели, характеризующие функцию печени

Таблица 1 (окончание). Объем обследования пациентов с подозрением на МПН

№	Исследования	Факторы для оценки
8	Комплекс исследований для диагностики обмена железа	Ферритин, трансферрин, ОЖСС, сывороточное железо. Анемия может носить смешанный генез (анемия хронических заболеваний и железодефицитная). Исследование обмена железа позволит определить ведущую причину анемического синдрома и назначить патогенетическую терапию
9	Эритропоэтин сыворотки крови	Для верификации диагноза, а также при наблюдении — в случае развития анемии
10	Молекулярно-генетическое исследование маркеров МПН (мутации в генах <i>JAKV617F</i> , <i>JAK2 exon 12</i> , <i>MPL</i> и <i>CALR</i>), экспрессия химерного транскрипта BCR::ABL1	Молекулярно-генетическое исследование позволяет провести дифференциальную диагностику как в группе МПН, так и между МПН и вторичными эритроцитозом, тромбоцитозом, миелофиброзом. Однако в 13—17% случаев МПН не выявляются «драйверные» мутации
11	Молекулярно-генетическое исследование мутаций в генах <i>ASXL1</i> , <i>EZH2</i> , <i>TET2</i> , <i>SRSF2</i> , <i>SF3B1</i> , молекулярно-генетическое исследование мутаций в гене <i>IDH1</i> в биопсийном (операционном) материале	Для верификации диагноза, определения прогноза, при решении вопроса о проведении алло-ТГСК при ПМФ
12	Цитогенетическое исследование (кариотип) костного мозга	Неблагоприятный кариотип: комплексный кариотип или +8, -7/7q-, i(17q), inv(3), 5/5q-, 12p- или 11q23
13	Ультразвуковое исследование органов брюшной полости (комплексное), ультразвуковое исследование почек и надпочечников, ультразвуковое исследование забрюшинных лимфатических узлов	Определение органомегалии, определение показаний для проведения спленэктомии перед алло-ТГСК (массивная спленомегалия > 20 см, резистентная к терапии ингибиторами JAK2)
14	Миелограмма	Количественный и качественный состав костного мозга
15	Патологоанатомическое исследование биопсийного (операционного) материала костного мозга с применением иммуногистохимических методов для выявления ретикулиновых и коллагеновых волокон	Определение клеточности костного мозга и наличия фиброза стромы, наличие признаков атипичии мегакариоцитарного роста
16	Дуплексное сканирование нижней полой вены и вен портальной системы	Выявление тромбоза сосудов портальной системы
ЛДГ — лактатдегидрогеназа; ОЖСС — общая железосвязывающая способность сыворотки; СОЭ — скорость оседания эритроцитов; СРБ — С-реактивный белок.		

После установления диагноза ПМФ следует определить индивидуальный прогноз для пациента с целью определения тактики терапии [2—4]. На момент установления диагноза определение прогноза происходит согласно Международному индексу оценки прогноза (International Prognostic Scoring System, IPSS) [7]. При наблюдении за пациентом в динамике используют прогностический индекс Dynamic IPSS (DIPSS), который способен предсказывать риск трансформации в любой момент оценки, а не только при установлении диагноза [8]. Прогностический индекс, учитывающий цитогенетические аномалии (изолированные нарушения +8, 7/7q, i(17q), inv(3), 5/5q, 12p или перестройка 11q23) получил наименование DIPSS+ и позволяет прогнозировать не только ОБ, но и время до развития бластного криза [9]. При решении вопроса о проведении алло-ТГСК целесообразно определять прогноз согласно прогностической шкале, включающей исследование как молекулярных маркеров, так и хромосомных aberrаций. Мутации генов *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1/2*, *U2AF1* отнесены к высокому молекулярному риску [10, 11]. «Благоприятный кариотип»: нормальный кариотип или 20q-, 13q-, +9, транслокация / дубликация 1, -Y или любые другие в половых хромосомах. «Неблагоприятный кариотип»: -7, i(17q), inv(3)/3q21, 12p-/12p11.2, 11q-/11q23 или другие, кроме +8/+9 (например, +21, +19) [12]. Прогностические факторы согласно Международной прогностической системе оценки ПМФ у взрослых до 70 лет, с учетом мутационного статуса и кариотипа, версия 2.0 (Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis in Adults 70 and Younger, version 2.0, MIPSS70+v2), и их балльное соответствие представлены в табл. 2.

Таблица 2. Международная прогностическая система оценки первичного миелофиброза у взрослых 70 лет и моложе, с учетом мутационного статуса и кариотипа (MIPSS70+v2)

Прогностические факторы	Количество баллов
Концентрация гемоглобина < 80 г/л	2
Концентрация гемоглобина 80—100 г/л	1
Количество лейкоцитов > $25 \times 10^9/\text{л}$	1
Количество тромбоцитов < $100 \times 10^9/\text{л}$	1
Доля бластных клеток в периферической крови $\geq 2\%$	1
Степень фиброза костного мозга ≥ 2	1
Конституциональные симптомы	2
Нет мутации <i>CALR</i> 1-го типа или ей подобной	2
Мутация высокого молекулярного риска	2
≥ 2 мутаций высокого молекулярного риска	3

Таблица 2 (окончание). Международная прогностическая система оценки первичного миелофиброза у взрослых 70 лет и моложе, с учетом мутационного статуса и кариотипа (MIPSS70+v2)

Прогностические факторы	Количество баллов
Неблагоприятный кариотип	3
Крайне неблагоприятный кариотип	4

Категории риска:

- очень высокий риск — ≥ 9 баллов; 10-летняя ОВ менее 5%, медиана 1,8 года;
- высокий риск — от 5 до 8 баллов; 10-летняя ОВ менее 13%, медиана 4,1 года;
- промежуточный риск — от 3 до 4 баллов; 10-летняя ОВ менее 37%, медиана 7,7 года;
- низкий риск — от 1 до 2 баллов; 10-летняя ОВ менее 56%, медиана 16,4 года;
- очень низкий риск — 0 баллов; 10-летняя ОВ менее 92%, медиана не достигнута.

Пример формулирования окончательного клинического диагноза

«Первичный миелофиброз, фиброзная стадия, *CALR*-позитивный, группа высокого риска (DIPSS)¹, группа высокого риска (MIPSS70+v2)². Состояние в процессе терапии гидроксикарбамидом. Прогрессирование заболевания».

«Посттромбоцитемический миелофиброз, *MPL*-позитивный, группа промежуточного-2 риска (MYSEC-PM). Массивная спленомегалия. Непереносимость интерферона альфа. Неэффективность гидроксикарбамида. Состояние в процессе терапии руксолитинибом от 15 сентября 2018 г.».

«Первичный миелофиброз, префиброзная стадия, *JAK2*-позитивный, группа низкого риска (DIPSS), группа низкого риска (DIPSS+), группа низкого риска (MIPSS70+v2). Высокий тромбоцитоз. Состояние в процессе терапии гидроксикарбамидом от августа 2004 г.».

«Первичный миелофиброз, фиброзная стадия, тройной негативный вариант, группа промежуточного-1 риска (DIPSS). Наблюдение».

¹ Определение прогноза согласно шкале DIPSS+ возможно только при выполнении цитогенетического исследования.

² Определение прогноза согласно шкале MIPSS70+v2 возможно при исследовании мутаций «высокого молекулярного риска».

Эффективность трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Эффективность алло-ТГСК при миелофиброзе оценивают в те же сроки, что и химеризм, в соответствии с критериями, где выделяют:

- 1) гематологическую ремиссию (нормальные показатели периферической крови, нет конституциональных симптомов, спленомегалии и цитогенетических нарушений);
- 2) полную гистогематологическую ремиссию (гематологическая ремиссия и полная регрессия фиброза костного мозга);
- 3) частичную гистогематологическую ремиссию (гематологическая ремиссия и частичная регрессия фиброза костного мозга);
- 4) неэффективность лечения (рецидив или отсутствие частичной гистогематологической ремиссии) [13].

Сроки и порядок оценки рецидива после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Рецидивом после алло-ТГСК у пациентов с миелофиброзом считается снижение донорского химеризма и повторное появление драйверных мутаций, если таковые имеются; гистологическая картина трепанобиоптата характеризует атипию мегакариоцитов и фиброз стромы; отмечается прогрессирующая потеря донорского химеризма. Риск рецидива составляет 22% через 3 года и примерно 28% через 5 лет [19].

Для оценки прогноза после алло-ТГСК у пациентов с миелофиброзом разработан прогностический индекс оценки трансплантации при миелофиброзе (Myelofibrosis transplant scoring system, MTSS), который учитывает следующие факторы: клинические (возраст ≥ 57 лет, оценка по шкале Карновского $< 90\%$, количество тромбоцитов $< 150 \times 10^9/\text{л}$, количество лейкоцитов $> 25 \times 10^9/\text{л}$), молекулярные (наличие мутации *ASXL1* и отсутствие мутаций *CALR* и *MPL*) и связанные с трансплантатом (HLA-несоответствие, родство донора и реципиента) [14]. По сумме баллов пациенты могут быть отнесены в категории риска: низкий (0–2 балла), средний (3–4 балла), высокий (5 баллов) и очень высокий (> 5 баллов). Пятилетняя выживаемость по группам риска в валидационной когорте составила 83% [95% доверительный интервал (ДИ), 71–95%], 64% (95% ДИ 53–75%), 37% (95% ДИ 17–57%) и 22% (95% ДИ 4–39%) соответственно ($p < 0,001$) [15].

Диагностический алгоритм, направленный на раннее выявление и изучение всех особенностей рецидива после алло-ТГСК, выполняется

в сроки определения донорского химеризма, одновременно с определением донорского химеризма и должен включать в себя:

- оценку конституциональных симптомов с использованием опросника МПН-10 или приложения МПН-трекер [16];
- молекулярно-генетическое исследование (*JAK2* V617F, *MPL*, *CALR* даже в случаях, если драйверные мутации не были выявлены в дебюте заболевания) [17];
- стандартное цитогенетическое исследование пунктата костного мозга;
- оценку размеров селезенки пальпаторно и с использованием инструментальных методов (если не выполнялась спленэктомия).

Трепанобиопсию костного мозга с гистологическим и гистохимическим исследованиями трепанобиоптата костного мозга целесообразно выполнять на 90-й и 180-й дни после алло-ТГСК, далее при появлении клинических или гематологических признаков рецидива [18].

Частота поздних рецидивов (через 5 лет) составляет 14%. Мониторинг химеризма, минимального остаточного заболевания, рецидива должен проводиться длительно, более 5 лет после алло-ТГСК [19].

Литература

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127:2391—2405.
2. Меликян А. Л., Ковригина А. М., Суборцева И. Н. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению Ph-негативных миело-пролиферативных заболеваний (истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии, первичного миелофиброза) (редакция 2020 г.). *Клиническая онкогематология* 2021; 14(2):262—298.
3. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2021; 96(1):145—162. DOI: 10.1002/ajh.26050.
4. Hernández-Boluda JC, Pereira A, Correa JG et al. Prognostic risk models for transplant decision-making in myelofibrosis. *Ann Hematol* 2018; 97(5):813—820. DOI: 10.1007/s00277-018-3240-x.
5. Kröger NM, Deeg JH, Olavarria E et al. Indication and management of allogeneic stem cell transplantation in primary myelofibrosis: a consensus process by an EBMT/ELN international working group. *Leukemia* 2015; 29(11):2126—2133.
6. Gerds AT, Gotlib J, Ali H et al. Myeloproliferative Neoplasms, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2022; 20(9):1033—1062. DOI: 10.6004/jnccn.2022.0046.
7. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2009; 113(13):2895—2901.

8. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood* 2010; 115(9):1703—1708.
9. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R et al. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol* 2011; 29:392—397.
10. Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P et al: Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia* 2013; 27(9):1861—1869.
11. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL et al: MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol* 2018; 36(17):1769—1770.
12. Tefferi A, Nicolosi M, Mudireddy M et al. Revised cytogenetic risk stratification in primary myelofibrosis: analysis based on 1002 informative patients. *Leukemia* 2018; 32(5):1189—1199.
13. Guardiola P, Anderson JE, Bandini G et al. Allogeneic stem cell transplantation for agnogenic myeloid metaplasia: a European Group for Blood and Marrow Transplantation, Société Française de Greffe de Moelle, Gruppo Italiano per il Trapianto del Midollo Osseo, and Fred Hutchinson Cancer Research Center Collaborative Study. *Blood* 1999; 93(9):2831—2838.
14. Gagelmann N, Ditschkowski M, Bogdanov R et al. Comprehensive clinical-molecular transplant scoring system for myelofibrosis undergoing stem cell transplantation. *Blood* 2019; 133:2233—2242.
15. Hernandez-Boluda JC, Pereira A, Alvarez-Larran A et al. Predicting survival after allogeneic hematopoietic cell transplantation in myelofibrosis: Performance of the myelofibrosis transplant scoring system (MTSS) and development of a new prognostic model. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26:2237—2244.
16. Palmer J, Kosiorek HE, Wolschke C et al. Assessment of quality of life following allogeneic stem cell transplant for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25(11):2267—2273. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.07.001.
17. Christopheit M, Badbaran A, Alawi M et al. Clonal evolution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: the case of myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26(7):e167—e170. DOI: 10.1016/j.bbmt.2020.02.021.
18. Чеботарев Д. И. Дифференциальная диагностика эссенциальной тромбоцитемии и различных стадий первичного миелофиброза: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2022.
19. Atagunduz IK, Christopheit M, Ayuk F et al. Incidence and outcome of late relapse after allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26(12):2279—2284. DOI: 10.1016/j.bbmt.2020.09.006.

**Аспекты подбора донора,
заготовки клеточного
материала и особенности
трансфузиологической помощи
при трансплантации
аллогенных гемопоэтических
стволовых клеток**

Глава 12.

Требования к HLA-типированию и оценка HLA-совместимости при трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток

Общие сведения

Главный комплекс генов гистосовместимости человека называется *HLA* от англ. human leukocyte antigens, т. к. изначально HLA-антигены были обнаружены на лейкоцитах. HLA-комплекс — наследуемая генетическая система для распознавания и отторжения чужеродных тканей и органов.

Одним из главных условий успешного проведения трансплантации аллогенного костного мозга / аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) является выбор оптимально совместимого донора. Наиболее предпочтительный донор при алло-ТГСК — *HLA*-(гено)идентичный сиблинг (родные брат или сестра) — «золотой стандарт донора», так как *HLA*-идентичный сиблинг наследует не только идентичные с больным гены *HLA*, но и одинаковые варианты всех других генов внутри *HLA*-гаплотипов.

Совокупность генов *HLA*, лежащих на одной хромосоме, называют *HLA*-гаплотипом, а на обеих хромосомах — *HLA*-генотипом (два *HLA*-гаплотипа). *HLA*-гаплотип наследуется весь целиком как отдельный менделевский признак. Вероятность совпадения сиблингов по обоим *HLA*-гаплотипам — 25%, поэтому *HLA*-идентичный сиблинг имеется не более чем у 25—30% больных с показаниями к алло-ТГСК.

Для остальных больных необходим поиск альтернативного донора (неродственного, HLA-гаплоидентичного, пуповинной крови).

В отличие от большинства генов человеческого генома *HLA*-гены экстремально полиморфны. Варианты одного и того же *HLA*-гена, различающиеся по нуклеотидной последовательности, — *HLA*-аллели. Действующая HLA-номенклатура ВОЗ введена в апреле 2010 г. В табл. 1 представлены обозначения *HLA*-генов и их расшифровка.

Таблица 1. Современная HLA-номенклатура

Обозначение	Расшифровка
<i>HLA</i>	Комплекс HLA-генов на 6-й хромосоме
<i>HLA-A2</i>	Серологически выявляемый антиген (<i>HLA-A2</i>)
<i>HLA-A*02</i> (одно поле)	Группа аллелей, кодирующая последовательность A2 антигена
<i>HLA-A*02:01</i> (два поля)	<i>HLA</i> -аллели с соответствующей одинаковой определенной аминокислотной последовательностью
<i>HLA-A*02:01:02</i> (три поля)	Аллель имеет синонимичную (не приводящую к замене синтезируемого белка) нуклеотидную замену по сравнению с <i>A*02:01:01</i>
<i>HLA-A*02:01:01:03</i> (четыре поля)	Аллель имеет нуклеотидную замену в некодирующей области (интроне/UTR) по сравнению с <i>A*02:01:01:01</i>
<i>HLA-A*24:09N</i>	Нулевой аллель, не экспрессирующийся на клеточной поверхности (Null)
<i>HLA-A*30:14L</i>	Аллель, кодирующий белок со сниженной экспрессией на клеточной поверхности (Low)
<i>HLA-B*44:02:01:02S</i>	Аллель кодирует белок, который экспрессируется только как секреторная молекула (Secreted)
<i>HLA-A*32:11Q</i>	Аллель имеет мутацию, которая оказывает влияние на экспрессию, однако выраженность экспрессии остается под вопросом (Questionable)

HLA-аллели могут быть идентифицированы с разной степенью разрешения. Взаимоотношение между различными уровнями разрешения при HLA-типировании и обозначения, соответствующие уровню разрешения, представлены на рис. 1.

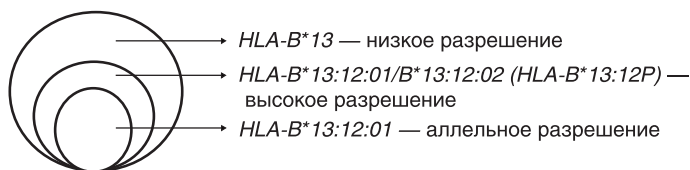


Рисунок 1. Взаимоотношение между различными уровнями разрешения при HLA-типировании и обозначения, соответствующие уровню разрешения.

Под HLA-типированием с низким разрешением (low resolution) понимается результат типирования, полученный методами ДНК-типирования на уровне первого поля согласно номенклатуре ВОЗ. Например, *A*01*; *A*02*; *B*13*.

Под HLA-типированием с высоким разрешением (high resolution) понимается идентификация аллелей, кодирующих одинаковую аминокислотную последовательность внутри антигенсвязывающего сайта. Высокое разрешение должно идентифицировать аллели на уровне первого и второго поля (четыре цифры), согласно номенклатуре ВОЗ, и разрешать все неоднозначности внутри 2-го и 3-го экзонов для генов *HLA* класса I и 2-го экзона для генов *HLA* класса II, приводящие к изменению аминокислотной последовательности, а также исключать все нулевые аллели (*N*), независимо от места локализации полиморфизма.

Под HLA-типированием с аллельным разрешением (allelic) понимается результат типирования на уровне отдельного аллеля, как уникальной нуклеотидной последовательности, при определении всех цифр в имени данного аллеля согласно номенклатуре ВОЗ. Например, *A*02:01:01:01* или *B*13:12*.

G-группы *HLA*-аллелей — группы аллелей, имеющих одинаковую нуклеотидную последовательность экзонов, кодирующих пептидсвязывающие домены (2-й и 3-й экзоны для аллелей *HLA* класса I и только 2-й экзон для аллелей *HLA* класса II). *G*-группа *HLA*-аллелей обозначается заглавной буквой ‘G’, за которой следуют 3 поля аллеля с самым низким номером в группе. Например, *A*01:03:01G* включает аллели *01:03:01:01/01:03:01:02/01:03:02/01:287N/01:315*, в том числе нулевой — *A*01:287N*.

P-группы *HLA*-аллелей — группы аллелей, имеющих одинаковую протеиновую последовательность пептидсвязывающих доменов (кодируются 2-м и 3-м экзонами у аллелей *HLA* класса I и 2-м экзоном у аллелей *HLA* класса II). *P*-группа обозначается заглавной буквой ‘P’, за которой следуют 2 поля аллеля с самым низким номером в группе. Например, *B*13:12P* включает аллели *B*13:12:01/B*13:12:02*.

Экзон — участок гена, несущий генетическую информацию, копия которого составляет зрелую РНК, кодирующую синтез определенного белка.

Иногда дополнительно выделяют такие уровни HLA-типирования, как типирование со средним разрешением и ультравысокое разрешение.

Под средним разрешением обычно понимают результат типирования, при котором определена группа аллелей с одинаковым первым полем, из которой исключены некоторые аллели, например, результат HLA-типирования *A*02:01/A*02:02* не включает другие аллели *A*02* (этот результат не включает, например, *A*02:03*, *A*02:04* и др.).

При ультравысоком разрешении выявляются замены в регионах *HLA*-генов, не типизируемых в рутине, то есть вне экзонов, кодирующих пептидсвязывающие домены, а также в интронах и нетранслируемых регионах (UTR). Вариации в этих областях гена могут влиять на экспрессию генов и их функцию, например, влиять на связывание молекул CD8 и CD4. Аллельное и ультравысокое разрешение при *HLA*-типировании стало доступно в последние годы вследствие широкого внедрения методов секвенирования следующего поколения (NGS — next generation sequencing).

Типирование *HLA*-генов может быть выполнено разными методами. Наиболее распространены в настоящее время следующие методы ДНК-типирования:

PCR-SSP — ПЦР (полимеразная цепная реакция, PCR) с сиквенс-специфическими праймерами (SSP — sequence specific primers);

PCR-SSO — метод специфических олигонуклеотидов (SSO — sequence specific oligonucleotides);

PCR-SBT — метод, использующий секвенирование по Сэнгеру (sequence-based typing);

NGS — *HLA*-типирование методами NGS (next-generation typing) — секвенирования следующего поколения.

Минимальные требования к проведению *HLA*-типирования при оценке совместимости перед алло-ТГСК при выполнении трансплантации от родственного *HLA*-идентичного донора (сиблинга)

- При установлении всех четырех родительских *HLA*-гаплотипов совместимый донор определяется при типировании пациента, сиблингов, родителей по генам *HLA-A*, *-B* и *HLA-DRB1* и совпадении большого и донора как минимум по 6 из 6 *HLA*-генов в низком разрешении.
- При невозможности установления идентичности по *HLA*-гаплотипам по родословной (в отсутствие выявления всех четырех родительских *HLA*-гаплотипов) проводится *HLA*-типирование пациента и донора, предусмотренное протоколом трансплантационного центра, но не менее чем по генам *HLA-A*, *-B* и *HLA-DRB1* в высоком разрешении. При необходимости дополнительно осуществляется *HLA*-типирование генов: *HLA-C*, *-DQB1*, *-DPB1* (расширенное типирование).
- Для подтверждения идентичности по *HLA*-гаплотипам до начала кондиционирования перед алло-ТГСК проводится повторное

HLA-типирование пациента и донора из новых образцов крови. В случае, когда определены все 4 родительских гаплотипа, исследование можно провести по *HLA-A*, *-B*, *-DRB1* в низком разрешении. В остальных случаях HLA-типирование пациента и донора осуществляют как минимум по генам *HLA-A*, *-B*, *-DRB1* в высоком разрешении.

- Для выполнения алло-ТГСК обязательным условием является совпадение результатов первичного и повторного типирования.

В случае, когда больной и донор-сibling отличаются по одному из генов *HLA* в результате рекомбинации (кроссинговера), проводится HLA-типирование в высоком разрешении как минимум по 5 генам (*HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1*, *-DQB1*). При данной алло-ТГСК необходимо совпадение пациента и донора-sibling по 9 из 10 *HLA*-генов.

Минимальные требования к проведению HLA-типирования при оценке совместимости перед алло-ТГСК при выполнении трансплантации от родственного гаплоидентичного донора

Внедрение новых методов обработки трансплантата и методов профилактики реакции трансплантат против хозяина (РТПХ) существенно снизили риск развития тяжелых осложнений при выполнении трансплантации от гаплоидентичных доноров. Родители, дети, siblings и другие родственники, которые наследуют общий с больным HLA-гаплотип, могут являться родственными HLA-гаплоидентичными донорами, что определяет доступность данного вида терапии для большинства (до 95%) пациентов.

- Должна быть установлена идентичность общего для больного и донора HLA-гаплотипа. Общий HLA-гаплотип устанавливается по результатам определения всех четырех родительских HLA-гаплотипов.
- При отсутствии возможности доказать идентичность общего HLA-гаплотипа по результатам определения четырех родительских HLA-гаплотипов, проводится HLA-типирование в высоком разрешении как минимум по генам *HLA-A*, *-B* и *HLA-DRB1*.
- Допускается только одно несовпадение между донором и пациентом по каждому из исследованных *HLA*-генов. Два и более несовпадения по одному *HLA*-гену свидетельствуют о том, что донор и пациент расходятся по обоим HLA-гаплотипам.
- Для подтверждения идентичности по HLA-гаплотипу до начала кондиционирования перед алло-ТГСК проводится повторное взятие образцов крови пациента и донора и их повторное HLA-типирова-

ние. В случае, когда определены все 4 родительских гаплотипа, исследование можно провести по генам *HLA-A*, *-B*, *-DRB1* в низком разрешении. В остальных случаях HLA-типирование пациента и донора осуществляют как минимум по генам *HLA-A*, *-B*, *-DRB1* в высоком разрешении.

Минимальные требования к проведению HLA-типирования при оценке совместимости донора и пациента перед алло-ТГСК от неродственного донора

Основная сложность в подборе совместимого неродственного донора ГСК определяется экстремальной вариабельностью *HLA*-генов. В настоящее время в базе данных IPD-IMGT/*HLA* зарегистрировано более 38 тысяч *HLA*-аллелей. Их число постоянно увеличивается, а в последние несколько лет в связи с внедрением в практику новых молекулярно-генетических методов HLA-типирования (секвенирования следующего поколения — NGS) этот процесс приобрел лавинообразный характер.

- Совместимый неродственный донор определяется по результатам *HLA*-генотипирования в случае полного совпадения 10 из 10 исследованных *HLA*-генов при типировании генов *HLA-A*, *-B*, *-C* и *-DRB1*, *-DQB1* в высоком разрешении.
- Для снижения риска тяжелых осложнений после трансплантации может выполняться дополнительное типирование генов *HLA-DPB1*, *HLA-DRB3/4/5* и других, а также HLA-типирование может проводиться на более высоком (ультравысоком или аллельном) уровне разрешения. В случаях, когда доноров несколько, из них следует выбирать донора, у которого отсутствует недопустимое несовпадение по гену *HLA-DPB1*. Это может быть в тех случаях, когда больной и донор относятся к разным группам Т-клеточных эпитопов (алгоритм выбора представлен на сайте <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/dpb.html>).
- Для подтверждения идентичности по HLA-гаплотипам перед алло-ТГСК проводится повторное взятие образцов крови и типирование пациента и донора не менее чем по *HLA-A*, *-B*, *-DRB1*-генам в высоком разрешении.
- Результаты HLA-типирования донора, внесенные в регистр, учитываются как одно из двух необходимых для выполнения алло-ТГСК HLA-типирований.

- Частично совместимый неродственный донор определяется по результатам HLA-типирования в случае совпадения от 7 до 9 из 10 исследованных HLA-генов при типировании генов *HLA-A*, *-B*, *-C* и *-DRB1*, *-DQB1* (как минимум) в высоком разрешении.

Минимальные требования к проведению HLA-типирования при оценке совместимости донора и пациента перед алло-ТГСК пуповинной крови

Требования к совместимости реципиента и образца пуповинной крови варьируют в рекомендациях международных сообществ.

- Традиционно образец пуповинной крови является приемлемым для ТГСК при совпадении с реципиентом по 4 из 6 генов *HLA-A* и *-B* в низком разрешении и гену *HLA-DRB1* в высоком разрешении.
- Типирование в высоком разрешении, а также типирование дополнительных *HLA*-генов может выполняться, если это предусмотрено протоколом трансплантационного центра.
- Перед алло-ТГСК выполняется повторное HLA-типирование пациента из вновь взятого образца и пуповинной крови из сегмента трубки криоконтейнера или флакона-спутника минимально по генам *HLA-A*, *-B* и *HLA-DRB1* в низком разрешении для подтверждения полученных ранее результатов.

Необходимо отметить, что в случае выявления HLA-гомозиготности и новых *HLA*-аллелей у больного, у которого с высокой частотой выявляются бластные клетки в периферической крови / костном мозге, результат HLA-типирования должен быть подтвержден или в семейных исследованиях, или при HLA-типировании ДНК больного, извлеченной не из опухолевых клеток.

При выборе донора, который не является HLA-идентичным сиблингом, необходимо учитывать возможное наличие у больного анти-HLA антител к донорскому антигену HLA, по которому донор не совпадает с больным, то есть определять наличие донорспецифических анти-HLA антител (DSA) у больного. Надо иметь в виду, что 80% *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1*, *-DQB1*-совместимых пар «донор—реципиент» при неродственной алло-ТГСК, не совпадают по HLA-DP, также при этом виде алло-ТГСК возможна несовместимость по *DRB3/4/5*, *DQA*, *DPA*.

Следует отметить, что последние версии некоторых национальных руководств по оценке HLA-совместимости и выбору донора [5] уже рекомендуют выполнять HLA-типирование по высокому разрешению по

генам *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB*, *-DQB1*, *-DPB1* при любом виде алло-ТГСК (родственной и неродственной, совместимой и частично совместимой, гаплоидентичной и трансплантации пуповинной крови). По рекомендации Центра международных исследований в области трансплантации гемопоэтических стволовых клеток крови и костного мозга (Center for International Blood and Marrow Transplant Research, CIBMTR), оптимальным HLA-типированием при алло-ТГСК является типирование по всем 11 классическим полиморфным *HLA*-генам: *A*, *-B*, *-C*, *-DRB1*, *-DRB3/4/5*, *-DQA1*, *-DQB1*, *-DPA1* и *-DPB1* с адекватным покрытием для получения результатов на уровне двухпольных значений [7]. Корректное проведение HLA-типирования больного, нуждающегося в алло-ТГСК, и его возможных доноров, а также правильная оценка степени HLA-совместимости между больным и тем или иным донором, несомненно, являются факторами, которые могут влиять на результаты алло-ТГСК. Требования к HLA-типированию ужесточаются с каждой новой версией стандартов EFI (European Federation for Immunogenetics) [3].

Литература

1. Хамаганова Е. Г., Кузьмина Л. А. Оценка HLA-совместимости и требования к HLA-типированию больного и донора при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Гематология и трансфузиология 2019; 64(2):175—187. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-2-175-187.
2. Dehn J, Spellman S, Hurley CK et al. Selection of unrelated donors and cord blood units for hematopoietic cell transplantation: guidelines from the NMDP/CIBMTR. Blood 2019; 134(12):924—934. DOI: 10.1182/blood.2019001212.
3. EFI (European Federation for Immunogenetics). Standards for histocompatibility & immunogenetics testing. Version 8.0. Available at: <https://efi-web.org/committees/standards-committee>.
4. Howard CA, Fernandez-Vina MA, Appelbaum FR et al. Recommendations for donor human leukocyte antigen assessment and matching for allogeneic stem cell transplantation: consensus opinion of the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN). Biol Blood Transplant 2015; 21(1):4—7. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.09.017.
5. Little AM, Yousefi AA, Anand A et al. BSHI Guideline: HLA matching and donor selection for haematopoietic progenitor cell transplantation. Int J Immunogenet 2021; 48(2):75—109. DOI: 10.1111/iji.12527.
6. Tiercy JM. How to select the best available related or unrelated donor of hematopoietic stem cells? Haematologica 2016; 101:680—687. DOI: 10.3324/haematol.2015.141119.
7. Yu N, Askar M, Wadsworth K et al. Current donor selection strategies for allogeneic hematopoietic cell transplantation. Hum Immunol 2022; 83(10):665—73. DOI: 10.1016/j.humimm.2022.04.008.

В. А. Васильева, О. С. Караваева, Л. А. Кузьмина,
О. С. Покровская, Е. Г. Хамаганова, Т. В. Гапонова

Глава 13.

Алгоритмы подбора доноров

Введение

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является одним из этапов программного лечения многих злокачественных и наследственных заболеваний у детей и взрослых [1—4]. По данным Европейской исследовательской группы по трансплантации костного мозга и стволовых клеток крови (ЕВМТ) [5], за последние 10 лет отмечен 2—3-кратный прирост выполненных трансплантаций в 655 центрах из 48 стран мира. За это время примерно в 5 раз увеличилось количество алло-ТГСК и в России, особенно от неродственных и гаплоидентичных доноров [5—7]. Это связано с улучшением результатов лечения пациентов за счет появления таргетных препаратов, позволяющих добиться ремиссии у пациентов с резистентными формами заболевания, уменьшения летальности, связанной с проведением высокодозной химиотерапии, в том числе за счет внедрения новых протоколов сопроводительной терапии, увеличения возраста пациентов, которые рассматриваются в качестве кандидатов для проведения алло-ТГСК (с 60 до 70 лет), с совершенствованием технологии выполнения ТГСК от гаплоидентичных (гапло-ТГСК) и частично совместимых неродственных доноров, а также с появлением объединенной базы неродственных доноров гемопоэтических стволо-

вых клеток (ГСК) локальных регистров медицинских организаций РФ [6, 7]. В 2022 г. было принято несколько законодательных актов: Постановление Правительства Российской Федерации от 12.04.2022 № 640 «Об утверждении Правил ведения Федерального регистра доноров костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, донорского костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, реципиентов костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток», Федеральный закон от 01.05.2022 № 129-ФЗ «О внесении изменений в Закон Российской Федерации “О трансплантации органов и (или) тканей человека” и Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» о создании в Российской Федерации Федерального регистра доноров костного мозга (ФРДКМ), в котором на ноябрь 2023 г. аккумулирована информация о более чем 208 000 потенциальных неродственных доноров. В состав ФРДКМ входит 13 локальных регистров, которые были созданы на базе государственных учреждений, и 2 регистра являются негосударственными [8]. В соответствии с Порядком оказания медицинской помощи при заболеваниях (состояниях), для лечения которых применяется трансплантация (пересадка) костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, значительно расширен перечень медицинских показаний для ее проведения. В частности, кроме злокачественных и других новообразований лимфоидной и кроветворной тканей, обозначены и злокачественные новообразования других органов и систем (мягких тканей, костей, суставных хрящей и др.), а также иные системные заболевания (демиелинизирующие болезни центральной нервной системы, болезни кожи и подкожной клетчатки, системные поражения соединительной ткани).

Таким образом, увеличилось количество пациентов, которым возможно выполнение алло-ТГСК, а также появились новые возможности поиска и проведение подбора как родственного, так и неродственного донора.

По данным статистического сборника «Здравоохранение 2021», ежегодно около 30 000 человек в России заболевает новообразованиями лимфоидной и кроветворной ткани [9]. Примерно шестая часть этих больных нуждается в проведении алло-ТГСК, но не более 20—25% пациентов имеют HLA-идентичного сиблинга [10]. В остальных случаях необходимо выполнять поиск неродственного донора или, в случае невозможности подбора полностью совместимого по 5 локусам антигенов HLA (human leucocytes antigens — антигены главного комплекса гистосовместимости человека), проводить гапло-ТГСК или трансплантацию от частично совместимого неродственного донора. По данным Российского межрегионального регистра ТГСК, в 2018 г. в РФ

существовало 20 трансплантационных центров, из них 12 проводили и алло-ТГСК, только 3 центра выполняли более 75 алло-ТГСК в год, 2 центра — по 52 и 65 алло-ТГСК в год, а все остальные центры в среднем выполняли 5 алло-ТГСК в год [11]. Суммарно в 2018 г. было выполнено 606 алло-ТГСК, что составило 42 на 10 млн населения, в то время как в Европе этот показатель составлял 580 алло-ТГСК на 10 миллионов населения [11, 12]. По данным Niederwieser et al. показано, что за 2019 г. в РФ 15 трансплантационными клиниками выполнено 797 алло-ТГСК, из них 225 — от неродственных доноров, а 571 — от родственных доноров [13].

Таким образом, несмотря на 5-кратный рост трансплантационной активности в РФ за последние 10 лет, суммарное количество как самих алло-ТГСК, так и центров, в которых их выполняют, крайне мало; большинство алло-ТГСК проводят в 8 трансплантационных центрах Москвы и Санкт-Петербурга.

HLA-типирование при подборе доноров

Одним из главных условий успешного проведения трансплантации является своевременный, до развития прогрессии заболевания или сопутствующих осложнений, выбор оптимального донора: родственного или неродственного. Подбор осуществляется по антигенам HLA-комплекса, наследуемой генетической системе, одной из главных функций которой является распознавание и отторжение чужеродных тканей и органов. Именно результаты HLA-типирования пациента и предполагаемых доноров определяют возможность выполнения трансплантации, выбор варианта ее проведения, а также особенности течения посттрансплантационного периода. В настоящее время в РФ подбор донора осуществляется по 5 локусам HLA-системы: HLA-A*, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1*, HLA-DQB1*. В зависимости от совместимости и родства существуют следующие виды доноров:

HLA-идентичный родственный донор — родственный донор, совпадающий по всем исследуемым HLA-генам¹.

HLA-идентичный сиблинг — донор, наследующий общие с пациентом HLA-гаплотипы от одних и тех же родителей.

Частично совместимый родственный донор — донор, отличающийся от пациента по одному HLA-гену.

¹ В некоторых ситуациях, особенно при близкородственных браках, возможно найти HLA-совместимого родственного донора среди близких родственников (не сиблингов). Именно поэтому с нашей стороны целесообразно использовать термин HLA-совместимый родственный донор, без указания в определении на тот факт, что они должны являться сиблингами.

Гаплоидентичный родственный донор — донор, отличающийся от пациента по двум и более HLA-генам, но имеющий не более одного несовпадения по каждому HLA-гену.

Большинство крупнейших международных организаций, занимающихся ТГСК, используют эти понятия, даже несмотря на несовпадения в некоторых аспектах с биологической стороной этого вопроса (табл. 1).

Таблица 1. Пример частично совместимого донора с расхождением по одному HLA-аллелю — A*03:01:01

	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1
Больная (PCR-SBT)	24:02:01 32:01:01	07:02:01 35:08:01	04:01:01 07:02:01	11:01:01 15:01:01	03:01:01 06:02:01
Донор — мать больной (NGS)	<u>03:01:01</u> 32:02:01	07:02:01 35:08:01	04:01:01 07:02:01	11:01:01 15:01:01	03:01:01 06:02:01
Несмотря на то что пациентка наследует один гаплотип от матери и биологически является гаплоидентичной, в отчетности она будет проходить как частично совместимый родственный донор. NGS (next generation sequencing) — секвенирование нового поколения. PCR-SBT (polymerase chain reaction-sequencing based typing) — метод, использующий секвенирование по Сэнгеру.					

Полностью совместимый неродственный донор — донор, полностью совпадающий с пациентом не менее чем по 10 из 10 HLA-генов (HLA-A*, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1*, HLA-DQB1*).

Частично совместимый неродственный донор — донор, совместимый с пациентом на 70—90% из 10 генов HLA (HLA-A*, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1*, HLA-DQB1*).

Как уже говорилось ранее, только 20—25% больных имеют HLA-идентичного родственного донора. Для выполнения алло-ТГСК от неродственного донора рекомендована максимальная (90—100%) совместимость по генам HLA-системы [14]. Распределение HLA-генотипов имеет расовые и национальные особенности [6,15]. При численности немецкого регистра 8 000 000 доноров вероятность нахождения полностью совместимого донора для немцев составляет около 70%, а вероятность нахождения донора для больного другой национальности в этом регистре значительно ниже [16]. Например, для жителя азиатского происхождения — только 5% [16]. Ранее нами было показано, что для 12% больных (из 107 обращений для поиска неродственного донора) невозможно было найти донора как в отечественных, так и зарубежных регистрах неродственных доноров [7]. Вероятность найти HLA-совместимого донора для российских больных в ФРДКМ может быть выше, чем во многих зарубежных регистрах, доноры в которых

могут значимо отличаться по распределению HLA-генов и -гаплотипов от потенциальных доноров из российской популяции. Рядом авторов показано, что выживаемость больных, которым алло-ТГСК выполнена от донора из отечественного регистра, сопоставима или выше, чем у больных, трансплантация которым выполнена от доноров из международных регистров [7, 17, 18].

В Российской Федерации в 2022 г. был создан ФРДКМ. Ранее поиск неродственных доноров костного мозга (КМ) и ГСК можно было проводить через объединенную информационную онлайн-платформу Bone Marrow Donor Search (BMDs) [6]. В ФРДКМ существует нескольких автоматизированных рабочих мест, различных по своему функционалу: сотрудник центра трансплантации, центра заготовки, типизирующей лаборатории, центра рекрутинга, администратора регистра.

После принятия решения о необходимости проведения алло-ТГСК первым этапом выполняют HLA-типирование пациента и сиблингов при их наличии; в случае отсутствия сиблингов проводят предварительный поиск доноров в ФРДКМ и международном регистре. В случае отсутствия HLA-идентичного сиблинга, а также при наличии клинической ситуации, когда невозможно проводить поиск донора (дефицит времени, высокий риск рецидива заболевания и т. п.), необходимо рассмотреть возможность выполнения алло-ТГСК от гаплоидентичного донора. В качестве гаплоидентичного донора для пациента может быть рассмотрен не только сиблинг, но и другие лица, имеющие кровные родственные связи с пациентом, в первую очередь родители и дети старше 18 лет.

Алгоритм поиска донора, принятый в НМИЦ гематологии, представлен на рис. 1. В диссертационной работе Гапоновой Т. В. было показано, что для того, чтобы осуществить трансплантацию от неродственного полностью совместимого донора при предварительном поиске в ФРДКМ, надо найти по крайней мере 3—5 полностью совместимых доноров в РФ [8]. Значимую роль в подборе доноров играет разнообразие HLA-гаплотипов, следует отметить, что шансы найти совместимого донора повышаются, когда этническая и территориальная принадлежность доноров и пациентов совпадают [8].

Результаты проведенных исследований и метаанализов показали, что результаты алло-ТГСК от неродственных доноров сопоставимы с таковыми при гапло-ТГСК [19, 20]. В связи с этим в НМИЦ гематологии принято решение — при отсутствии полностью совместимого неродственного или родственного донора, но при наличии гаплоидентичного (в возрасте от 18 до 50—55 лет, при отсутствии противопоказаний к донорству) не проводить активацию поиска неродственного частично совместимого донора, а рассмотреть возможность выполнения гаплоидентичной ТГСК.

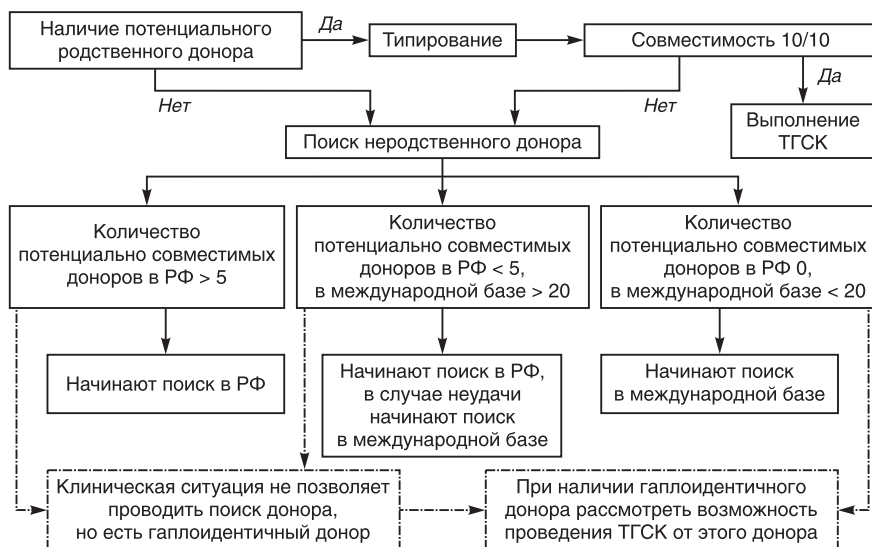


Рисунок 1. Алгоритм подбора потенциального донора.

Однако в случае отсутствия полностью совместимого родственного или неродственного и гаплоидентичного донора необходимо рассмотреть возможность поиска частично совместимого донора в ФРДКМ или международных базах данных при наличии показаний к проведению алло-ТГСК.

Алгоритм выбора донора представлен в табл. 2.

Таблица 2. Алгоритм выбора донора

Выбор	Вид донора
Донор первого порядка	Родственный полностью совместимый, желательно в возрасте до 50—55 лет ^а , при отсутствии медицинского отвода (онкологические и аутоиммунные и другие заболевания, в соответствии с Приказом Минздрава России от 12.12.2018 № 875н)
Донор второго порядка	Неродственный полностью совместимый донор в возрасте до 50 лет ^а
Донор третьего порядка	Гаплоидентичный донор в возрасте до 50—55 лет ^а (рекомендовано, чтобы ЦМВ-статус соответствовал ЦМВ-статусу пациента)
Донор четвертого порядка	Неродственный частично совместимый донор (расхождение по локусу DQB1, так же как и различия в С-аллелях в С *03:03 против 03:04, являются допустимыми и не влияют на результат алло-ТГСК [17])
Описание методов HLA-типирования, необходимых для конкретных доноров и пациента, представлен в гл. «Требования к HLA-типированию и оценка HLA-совместимости при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток»..	
^а При невозможности подбора донора в возрасте до 50—55 лет рассмотреть возможность подбора родственного или неродственного донора из старшей возрастной группы, желательно не старше 60 лет.	
ЦМВ — цитомегаловирус; ЦМВ-статус — наличие или отсутствие инфицирования ЦМВ.	

Факторы, не связанные с HLA-совместимостью, влияющие на выбор донора

При выборе донора следует обращать внимание на следующие аспекты, не связанные с HLA-совместимостью:

1. Предпочтение отдается молодым донорам. Были показаны достоверные различия, что если донор на 10 лет моложе реципиента, то двухлетняя выживаемость лучше, кроме того, снижается вероятность развития острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [21, 22]. В настоящее время много внимания уделяют клональному гемопоэзу с неопределенным потенциалом, что является распространенным возрастным состоянием, которое выявляют у более 10% здоровых взрослых людей старше 65 лет [23].
2. Предпочтение отдается донорам-мужчинам при выполнении алло-ТГСК реципиенту-мужчине [24].
3. Если донор — женщина, необходимо обратить внимание на число беременностей в анамнезе, т. к. с каждой беременностью увеличивается количество антител к белкам HLA-системы [14, 25]. Однако в случае проведения гаплоидентичной ТГСК детям до сих пор обсуждается выбор донора между матерью и отцом. В работе Stern et al. лучшая выживаемость была показана у пациентов, перенесших трансплантацию от матери, чем от отца (51% против 11%; $p < 0,001$), благодаря снижению частоты рецидивов и летальности, связанной с трансплантацией, что, возможно, объясняется трансплацентарным перемещением лейкоцитов во время беременности, вызывающим долговременный, стабильный, реципрокный микрохимеризм у матери и ребенка [26].
4. Необходимо обратить внимание на ЦМВ-статус. Лучшие результаты алло-ТГСК наблюдаются у ЦМВ-серонегативных реципиентов, получивших ЦМВ-серонегативный трансплантат [21, 27].
5. Влияние совместимости по системе АВ0 (группы крови) на исход алло-ТГСК является умеренным и связано с менее частым использованием в настоящее время костного мозга в качестве источника трансплантата, однако при групповой несовместимости увеличивается риск осложнений — парциальной красноклеточной аплазии, гемолиза. При комбинированной групповой несовместимости был выявлен более высокий риск острой РТПХ III или IV степени, удлинение сроков приживления трансплантата [28, 29]. Поэтому при возможности выбора предпочтение отдается донору с той же группой крови.

Выбор источника трансплантата

При алло-ТГСК от совместимого родственного или неродственного донора результаты выживаемости были одинаковыми при использовании КМ или стволовых клеток крови (СКК). Однако гематологическое восстановление происходит быстрее, а отторжение трансплантата реже после трансплантации СКК, по сравнению с КМ. В то же время частота острой и хронической РТПХ, как правило, выше после трансплантации СКК, что, однако, не отражается на общей выживаемости [30].

Объем забираемого продукта и целевое количество клеток в трансплантате представлены в табл. 3.

Таблица 3. Объем забираемого продукта и целевое количество клеток в трансплантате

	Объем забираемого продукта	Целевое количество клеток
КМ	10—20 мл на 1 кг веса донора	$> 2 \times 10^8$ ЯСК на 1 кг веса реципиента
СКК	150—400 мл	$5-10 \times 10^6$ CD34+ на 1 кг веса реципиента
Пуповинная кровь	80—160 мл	$> 3 \times 10^7$ ЯСК на 1 кг веса реципиента
ЯСК — ядросодержащие клетки.		

В качестве источника трансплантата могут быть использованы клетки пуповинной крови, однако этот выбор ограничен низкой клеточностью трансплантата и плохими результатами алло-ТГСК у взрослых пациентов со злокачественными заболеваниями системы крови [21].

Выбор донора и источника трансплантата в условиях COVID-19

1. В качестве приоритетного источника рекомендуется использовать СКК. КМ применяют только при строгих показаниях или при невозможности заготовки СКК.
2. При получении трансплантата от неродственного донора предпочтительнее выполнить криоконсервирование, а кондиционирование больному начинать только после получения заготовленных ГСК. Хотя этот алгоритм влечет за собой дополнительные расходы и работу персонала во время проведения процедуры криоконсервирования и хранения трансплантата. Также, как показывает практика, не все криоконсервированные трансплантаты будут перелиты больным [32].

3. В случае диагностики COVID-19 у потенциального донора КМ и/или СКК проведение донации возможно только через 14 дней после его выздоровления.
4. В случае контакта донора с лицом с возможным или диагностированным COVID-19 донация возможна только через 14 дней после последнего контакта с этим лицом.
5. Обязательно исследование на РНК SARS-Cov2 перед проведением мобилизации ГСК у донора.
6. Донацию ГСК после вакцинации как векторными вакцинами, так и m-РНК-вакцинами против COVID-19 рекомендовано проводить не ранее чем через 3—7 дней после вакцинации [33].
7. В предыдущих исследованиях не было показано, что вакцинация доноров стволовых клеток перед донацией приносит пользу реципиентам ГСК [34]. Также это практически неосуществимо в случае неродственных доноров. Донорам не рекомендуется проводить вакцинацию в интересах реципиента. Если проведение алло-ТГСК не является срочным, имеет смысл вакцинировать донора перед сдачей ГСК, чтобы снизить риск заражения донора COVID-19.
8. Если донор был вакцинирован, желательно выждать не менее двух недель после второй дозы вакцины до донорства стволовых клеток (если возможно), поскольку это может обеспечить некоторый защитный эффект для реципиента.

Донорспецифические HLA-антитела

Имеется 11 классических полиморфных генов *HLA-A*, *-B*, *-C*, *DRB1*, *DRB3/4/5*, *DQA1*, *-DQB1*, *DPA1*, *DPB1*. В сыворотке пациентов — кандидатов на алло-ТГСК — могут определяться аллоантитела к HLA-молекулам, кодируемым этими генами. Если анти-HLA антитела у пациентов направлены против HLA-антигенов донора, они донорспецифические (ДСА). ДСА могут обуславливать повышенный риск несостоятельности трансплантата, что ухудшает выживаемость пациентов после гаплоидентичной ТГСК [35, 36]. Антитела к тромбоцитам (анти-HLA класса I и анти-НРА) ответственны за развитие рефрактерности к трансфузиям тромбоконцентрата [37—39].

В связи с этим в НМИЦ гематологии рекомендовано при несовместимом доноре (частично совместимый родственный/неродственный или гаплоидентичный) обязательное выполнение исследования на определение ДСА (табл. 4).

Таблица 4. Типирование пациента и неродственного донора

	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1	Выявленные анти- HLA антитела у реципиента
Реципиент	24:02:01 32:01:01	07:02:01 35:08:01	04:01:01 07:02:01	11:01:01 15:01:01	03:01:01 06:02:01	A*02:01 B*57:01
Донор	02:01:01 24:02:01	07:02:01 35:08:01	04:01:01 07:02:01	11:01:01 15:01:01	03:01:01 06:02:01	
Донор частично совместим (расхождение по локусу A). Выявленные у реципиента анти-HLA антитела к антигену A*02:01 являются донорспецифическими (донор — носитель антигена A*02:01). Выявленные у реципиента анти-HLA антитела к антигену B*57:01 не являются донорспецифическими, так как этот антиген отсутствует у донора.						

Факторы риска формирования анти-HLA антител

К основным факторам риска формирования антител к HLA относят беременность, трансфузии компонентов донорской крови, трансплантацию в анамнезе [40—42]. В меньшей степени аллоиммунизация может происходить и при реагировании на перекрестно-реактивные эпителии микроорганизмов, а также при половых контактах [43, 44].

Роль анти-HLA антител в развитии несостоятельности трансплантата

Выявление ДСА является фактором риска первичного неприживания трансплантата как в трансплантации солидных органов [45], так и в трансплантации стволовых клеток крови [46]. Имеются сообщения, что присутствие анти-HLA антител (недонорспецифических) не влияет на вероятность приживания [42, 47], однако является фактором развития острой РТПХ и ухудшения общей выживаемости [48]. Интересным также представляется тот факт, что выявление в сыворотке донора анти-HLA антител, специфических к антигенам реципиента (так называемых реципиентспецифических антител), является предиктором развития острой и хронической РТПХ [49].

Вероятность несостоятельности трансплантата при выявлении у реципиента ДСА варьирует, по данным разных авторов, от 27% до 75% (в сравнении с 2—5% у пациентов без ДСА) [50—54]. Также было показано, что выявление ДСА, связывающих компонент комплемента C1q, повышает вероятность развития несостоятельности трансплантата до 90% [36].

Методы диагностики

Анализ антител к HLA проводят в сыворотке реципиента и осуществляют двумя способами: прямая перекрестная проба и виртуальная перекрестная проба.

Прямую перекрестную пробу, или серологический лимфоцитотоксический тест, выполняют путем инкубации лимфоцитов донора с сывороткой реципиента. К сожалению, этот метод не обладает высокой чувствительностью, но использование проточной цитофлуориметрии для анализа позволило повысить чувствительность теста. Анализ методом проточной цитофлуориметрии позволяет выявлять связывание антител реципиента с лимфоцитами донора, используя вторичные антитела, меченные флуорохромом [55]. Однако недостатком этого метода является трудность его стандартизации, детекция других антител (не к HLA), отсутствие определения специфичности выявленных антител, а также потребность в лимфоцитах донора для проведения анализа [56].

Чаще при выполнении алло-ТГСК применяют метод твердофазного иммуноферментного анализа для проведения виртуальной перекрестной пробы [35]. Используют растворимые молекулы HLA, связанные с твердой матрицей (планшет для микротитрования) (твердофазный иммуноферментный анализ; ELISA) или с микросферами из полистирола (мультиплексные мультианалитические наборы шариков; анализ осуществляют с помощью прибора Luminex) [57—59]. Если в сыворотке реципиента присутствуют анти-HLA антитела, они связываются с теми лунками планшета или микросферами, к антигенам которых специфичны. После установления HLA-антигенов, к которым направлены анти-HLA антитела реципиента, результаты анализа сравнивают с HLA-типированием донора и делают вывод о «донорспецифичности» выявленных антител. Этот метод быстрее и проще в сравнении с прямой перекрестной пробой, обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Помимо идентификации антител метод также может дать полуколичественную оценку способности связывания антител [оптическая плотность по сравнению с отрицательным контролем — ELISA; среднее значение интенсивности флуоресценции (MFI) — Luminex] [60].

Подходы при выявлении антител

Выполнение ТГСК рекомендуется при отсутствии ДСА в сыворотке реципиента или при их низком уровне (MFI менее 1000).

В случае выявления ДСА в среднем (MFI 1000—5000) или высоком титре (MFI более 5000) рекомендуется выбор альтернативного донора, к антигенам которого нет антител [36, 53, 61], но, если это невозможно, необходимо проведение десенситизации.

Методы десенсилизации

Среди подходов к десенсилизации ДСА можно выделить несколько основных стратегий: удаление циркулирующих антител (плазмаферез, иммуноадсорбция), нейтрализация антител (трансфузия подобранных по HLA тромбоцитов или облученных лейкоцитов, применение внутривенного иммуноглобулина), снижение выработки антител путем блокирования или снижения количества В-клеток (ритуксимаб, бортезомиб, микофенолата мофетил) [36, 50, 53, 61–64].

Метод десенсилизации, применяемый в ФГБУ «НМИЦ гематологии»

- Ритуксимаб, 375 мг/м² в –15-й день.
- Микофенолата мофетил, 30 мг/кг/сут в –14-й и +5-й дни.
- Плазмаферез (2 сеанса), 1 объем ОЦК в –1-й и 0-й дни.
- Инфузия HLA-подобранных тромбоцитов (для антител к I классу), 1 доза в сутки с –2-го по 0-й день.

Абсолютные и относительные противопоказания к донорству

В соответствии с приказом Минздрава России от 12.12.2018 № 875н, **абсолютными медицинскими противопоказаниями** для изъятия аллогенного КМ и забора аллогенных ГСК в целях их трансплантации являются следующие заболевания (состояния) у донора:

- инфекционные заболевания в стадии обострения;
- наличие в крови маркеров вируса иммунодефицита человека;
- болезнь Крейтцфельда—Якоба (прионная болезнь);
- злокачественные новообразования;
- кахексия;
- терапия иммуносупрессивными лекарственными препаратами или иными лекарственными препаратами, которые могут повлиять на способность к самоподдержанию собственной популяции и полипотентность КМ и ГСК (на дату изъятия КМ и забора ГСК и до прекращения приема указанных лекарственных препаратов и восстановления кровяных ростков);
- психические расстройства и расстройства поведения в состоянии обострения и (или) представляющие опасность для больного и окружающих;
- психические расстройства и расстройства поведения, вызванные употреблением психоактивных веществ;
- беременность;
- грудное вскармливание.

Относительными медицинскими противопоказаниями для изъятия аллогенного КМ и забора аллогенных ГСК в целях их трансплантации являются следующие заболевания (состояния) донора:

- наличие инфекционных заболеваний вне обострения или инфекционные заболевания в анамнезе, в том числе выявление маркеров вирусных гепатитов (за исключением перенесенного гепатита А в анамнезе), сифилиса;
- доброкачественные новообразования;
- нарушения здоровья, связанные с расстройством двигательных функций, болезнями системы кровообращения, органов пищеварения и органов дыхания, мочеполовой системы, эндокринной системы, крови, кроветворных органов и отдельными нарушениями, вовлекающими иммунный механизм, психическими расстройствами и сопровождающиеся стойким расстройством функций организма.

При наличии у донора относительных медицинских противопоказаний для изъятия КМ и забора ГСК, а также при наличии временных или постоянных отводов для сдачи компонентов крови в соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ от 28.10.2020 № 1166н **решение об изъятии костного мозга или заборе гемопоэтических стволовых клеток принимается консилиумом врачей медицинской организации, осуществляющей трансплантацию.**

Литература

1. Савченко В. Г., Любимова Л. С., Паровичникова Е. Н. Трансплантация аллогенных и аутологичных гемопоэтических стволовых клеток при острых лейкозах (итоги 20-летнего опыта). Терапевтический архив. 2007; 7:30—35.
2. Румянцев А. Г., Масчан А. А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. М.: МИА, 2003. 909 с.
3. Афанасьев Б. В., Зубаровская Л. С. Роль трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в терапии взрослых больных острыми лейкозами. Онкогематология 2006; 1—2:70—85.
4. Carreras E, Masszi T, Apperley J, editors. The EBMT Handbook, 6th ed. Haematopoietic Stem Cell Transplantation; 2012. 683 p.
5. Passweg JR, Baldomero H, Bader P et al. Use of haploidentical stem cell transplantation continues to increase: the 2015 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. Bone Marrow Transplant 2017; 52(6):811—817. DOI: 10.1038/bmt.2017.34.
6. Алянский А. Л., Макаренко О. А., Иванова Н. Е. и др. Развитие регистра неродственных доноров костного мозга в Российской Федерации: опыт НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Гор-

- бачевой. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2016; 3(2): 68—74. DOI: 10.17650/2311-1267-2016-3-2-68-74.
7. Васильева В. А., Кузьмина Л. А., Паровичникова Е. Н. и др. Выполнение трансплантаций аллогенных гемопоэтических стволовых клеток от неродственных доноров из Российского и зарубежного регистров в одном трансплантационном центре. Гематология и трансфузиология 2020; 65(3): 299—311. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-3-299-311.
 8. Гапонова Т. В. Стратегия формирования регистра доноров костного мозга с использованием инфраструктуры службы крови: дис. ... д-ра мед. наук. М., 2022. 462 с.
 9. Смелов П. А., Никитина С. Ю., Агеева Л. И. и др. Здравоохранение в России: статистический сборник (2021). М.: Федеральная служба государственной статистики РФ, 2021. 173 с.
 10. Rosenmayr A, Pointner-Prager M, Mitterschiffthaler A et al. What are a patient's current chances of finding a matched unrelated donor? Twenty years' central search experience in a small country. Bone Marrow Transplant 2012; 47(2): 172—180. DOI: 10.1038/bmt.2011.67.
 11. Менделеева Л. П., Савченко В. Г., Паровичникова Е. Н. и др. Анализ трансплантационной активности в РФ за 2018 г. (отчет межрегионального регистра). Гематология и трансфузиология 2020; 65(1):180.
 12. Passweg JR, Baldomero H, Bader P et al. Is the use of unrelated donor transplantation leveling off in Europe? The 2016 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. Bone Marrow Transplant 2018; 53(9): 1139—1148. DOI: 10.1038/s41409-018-0153-1.
 13. Niederwieser D, Baldomero H, Bazuaye N et al. One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. Haematologica 2021; 107(5):1045—1053. DOI: 10.3324/haematol.2021.279189.
 14. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N, editors. The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5.
 15. Хамаганова Е. Г., Кузьминова Е. П., Абдрахимова А. Р. и др. Генетические дистанции по HLA-генам между донорами гемопоэтических стволовых клеток регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России и другими российскими и мировыми популяциями. Трансфузиология 2018; 19(1): 13—26.
 16. Müller CR, Ehninger G, Goldmann SF. Gene and haplotype frequencies for the loci HLA-A, HLA-B, and HLA-DR based on over 13,000 German blood donors. Hum Immunol 2003; 64(1):137—151. DOI: 10.1016/S0198-8859(02)00706-1.
 17. Furst D, Muller C, Vucinic V et al. High-resolution HLA matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis. Blood 2013; 122(18):3220—3229. DOI: 10.1182/blood-2013-02-482547.
 18. Morishima Y, Kawase T, Malkki M et al. Significance of ethnicity in the risk of acute graft-versus-host disease and leukemia relapse after unrelated donor hema-

- topoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19(8):1197—1203. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.05.020.
19. Brissot E, Labopin M, Ehninger G et al. Haploidentical versus unrelated allogeneic stem cell transplantation for relapsed/refractory acute myeloid leukemia: a report on 1578 patients from the acute leukemia working party of the EBMT. *Haematologica* 2019; 104(3):524—532. DOI: 10.3324/haematol.2017.187450.
 20. Arcuri LJ, Aguiar MTM, Ribeiro AAF et al. Haploidentical transplantation with post-transplant cyclophosphamide versus unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25(12):2422—2430. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.07.028.
 21. Shaw BE, Logan BR, Spellman SR et al. Development of an unrelated donor selection score predictive of survival after HCT: donor age matters most. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24(5):1049—1056. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.02.006.
 22. Im A, Rashidi A, Wang T et al. Risk factors for graft-versus-host disease in haploidentical hematopoietic cell transplantation using post-transplant cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26(8):1459—1468. DOI: 10.1016/j.bbmt.2020.05.001.
 23. DeZern AE, Gondek LP. Stem cell donors should be screened for CHIP. *Blood Adv* 2020; 4(4):784—788. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000394.
 24. Gratwohl A, Stern M, Brand R et al. Risk score for outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis. *Cancer* 2009; 115(20):4715—4726. DOI: 10.1002/cncr.24531.
 25. Brand A, Doxiadis IN, Roelen DL. On the role of HLA antibodies in hematopoietic stem cell transplantation. *Tissue Antigens* 2013; 81(1):1—11. DOI: 10.1111/TAN.12040.
 26. Stern M, Ruggeri L, Mancusi A et al. Survival after T cell-depleted haploidentical stem cell transplantation is improved using the mother as donor. *Blood* 2008; 112(7):2990—2995. DOI: 10.1182/BLOOD-2008-01-135285.
 27. Ljungman P. The role of cytomegalovirus serostatus on outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol* 2014; 21(6):466—469. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000085.
 28. Worel N. ABO-mismatched allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Med Hemother* 2016; 43(1):3—12. DOI: 10.1159/000441507.
 29. Seebach JD, Stussi G, Passweg JR et al. ABO blood group barrier in allogeneic bone marrow transplantation revisited. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11(12):1006—1013. DOI: 10.1016/J.BBMT.2005.07.015.
 30. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ et al. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med* 2012; 367(16):1487—1496. DOI: 10.1056/nejmoa1203517.
 31. Протоколы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / под ред. В. Г. Савченко. М.: Практика, 2020. 320 с.
 32. Fernandez-Sojo J, Azqueta C, Valdivia E et al. Cryopreservation of unrelated donor hematopoietic stem cells: the right answer for transplantations during the COVID-19 pandemic? *Bone Marrow Transplant* 2021; 1:1—8. DOI: 10.1038/s41409-021-01367-x.

33. Cesaro S, Ljungman P, Mikulska M et al. Recommendations for the management of COVID-19 in patients with haematological malignancies or haematopoietic cell transplantation, from the 2021 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 9). *Leukemia* 2022; 36(6):1467—1480. DOI: 10.1038/S41375-022-01578-1.
34. Ambati A, Boas LSV, Ljungman P et al. Evaluation of pretransplant influenza vaccination in hematopoietic SCT: A randomized prospective study. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(6):858—864. DOI: 10.1038/bmt.2015.47.
35. Kongtim P, Cao K, Ciurea SO. Donor specific anti-HLA antibody and risk of graft failure in haploidentical stem cell transplantation. *Adv Hematol* 2016; 2016:4025073. DOI: 10.1155/2016/4025073.
36. Ciurea SO, Thall PF, Milton DR et al. Complement-binding donor-specific anti-HLA antibodies and risk of primary graft failure in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(8):1392—1398. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.05.001.
37. Nakazawa Y, Saito S, Hasegawa Y et al. A possible role for the production of multiple HLA antibodies in fatal platelet transfusion refractoriness after peripheral blood progenitor cell transplantation from the mother in a patient with relapsed leukemia. *Transfusion* 2007; 47(2):326—334. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01109.x.
38. Hatakeyama N, Hori T, Yamamoto M et al. Platelet transfusion refractoriness attributable to HLA antibodies produced by donor-derived cells after allogeneic bone marrow transplantation from one HLA-antigen-mismatched mother. *Pediatr Transplant* 2011; 15(8):E177—E182. DOI: 10.1111/j.1399-3046.2010.01365.x.
39. Fasano RM, Mamcarz E, Adams S et al. Persistence of recipient human leucocyte antigen (HLA) antibodies and production of donor HLA antibodies following reduced intensity allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2014; 166(3):425—434. DOI: 10.1111/bjh.12890.
40. Densmore TL, Goodnough LT, Ali S et al. Prevalence of HLA sensitization in female apheresis donors. *Transfusion* 1999; 39(1):103—106. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1999.39199116901.x.
41. Kakaiya RM, Triulzi DJ, Wright DJ et al. Prevalence of HLA antibodies in remotely transfused or alloexposed volunteer blood donors. *Transfusion* 2010; 50(6):1328—1334. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2009.02556.x.
42. Ciurea SO, Thall PF, Wang X et al. Donor-specific anti-HLA Abs and graft failure in matched unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2011; 118(22):5957—5964. DOI: 10.1182/blood-2011-06-362111.
43. Morales-Buenrostro LE, Terasaki PI, Marino-Vázquez LA et al. “Natural” human leukocyte antigen antibodies found in nonalloimmunized healthy males. *Transplantation* 2008; 86(8):1111—1115. DOI: 10.1097/TP.0b013e318186d87b.
44. Peters B, Whittall T, Babaahmady K et al. Effect of heterosexual intercourse on mucosal alloimmunisation and resistance to HIV-1 infection. *Lancet* 2004; 363(9408):518—524. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15538-4.

45. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969; 280(14):735—739. DOI: 10.1056/nejm196904032801401.
46. Anasetti C, Amos D, Beatty PG et al. Effect of HLA compatibility on engraftment of bone marrow transplants in patients with leukemia or lymphoma. *N Engl J Med* 1989; 320(4):197—204. DOI: 10.1056/NEJM198901263200401.
47. Takamashi M, Atsuta Y, Fujiwara K et al. The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations. *Blood* 2010; 116(15):2839—2846. DOI: 10.1182/blood-2009-10-249219.
48. Pan Z, Yuan X, Li Y et al. Dynamic detection of anti-human leukocyte antigen (HLA) antibodies but not HLA-DP loci mismatches can predict acute graft-versus-host disease and overall survival in HLA 12/12-matched unrelated donor allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(1):86—95. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.08.015.
49. Delbos F, Barhoumi W, Cabanne L et al. Donor immunization against human leukocyte class II antigens is a risk factor for graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(2):292—299. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.09.027.
50. Ciurea SO, De Lima M, Cano P et al. High risk of graft failure in patients with anti-HLA antibodies undergoing haploidentical stem-cell transplantation. *Transplantation* 2009; 88(8):1019—1024. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181b9d710.
51. Ruggeri A, Rocha V, Masson E et al. Impact of donor-specific anti-HLA antibodies on graft failure and survival after reduced intensity conditioning-unrelated cord blood transplantation: A Eurocord, société Francophone d’Histocompatibilité et d’immunogénétique (SFHI) and Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC) analysis. *Haematologica* 2013; 98(7):1154—1160. DOI: 10.3324/haematol.2012.077685.
52. Cutler C, Kim HT, Sun L et al. Donor-specific anti-HLA antibodies predict outcome in double umbilical cord blood transplantation. *Blood* 2011; 118(25):6691—6697. DOI: 10.1182/blood-2011-05-355263.
53. Yoshihara S, Maruya E, Taniguchi K et al. Risk and prevention of graft failure in patients with preexisting donor-specific HLA antibodies undergoing unmanipulated haploidentical SCT. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47(4):508—515. DOI: 10.1038/bmt.2011.131.
54. Chang YJ, Zhao XY, Xu LP et al. Donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies were associated with primary graft failure after unmanipulated haploidentical blood and marrow transplantation: a prospective study with randomly assigned training and validation sets. *J Hematol Oncol* 2015; 8(1):84. DOI: 10.1186/s13045-015-0182-9.
55. Couzi L, Araujo C, Guidicelli G et al. Interpretation of positive flow cytometric crossmatch in the era of the single-antigen bead assay. *Transplantation* 2011; 91(5):527—535. DOI: 10.1097/TP.0b013e31820794bb.
56. Tait BD, Süsal C, Gebel HM et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation* 2013; 95(1):19—47. DOI: 10.1097/TP.0b013e31827a19cc.

57. Zachary AA, Ratner LE, Graziani JA et al. Characterization of HLA class I specific antibodies by ELISA using solubilized antigen targets: II. Clinical relevance. *Hum Immunol* 2001; 62(3):236—246. DOI: 10.1016/S0198-8859(00)00253-6.
58. Pei R, Lee JH, Chen T et al. Flow cytometric detection of HLA antibodies using a spectrum of microbeads. *Hum Immunol* 1999; 60(12):1293—1302. DOI: 10.1016/S0198-8859(99)00121-4.
59. Pei R, Lee JH, Shih NJ et al. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation* 2003; 75(1):43—49. DOI: 10.1097/00007890-200301150-00008.
60. Ciurea SO, Cao K, Fernandez-Vina M et al. The European society for blood and marrow transplantation (EBMT) consensus guidelines for the detection and treatment of donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) in haploidentical hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53(5):521—534. DOI: 10.1038/s41409-017-0062-8.
61. Leffell MS, Jones RJ, Gladstone DE. Donor HLA-specific Abs: To BMT or not to BMT? *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(6):751—758. DOI: 10.1038/bmt.2014.331.
62. Ottinger HD, Rebmann V, Pfeiffer KA et al. Positive serum crossmatch as predictor for graft failure in HLA-mismatched allogeneic blood stem cell transplantation. *Transplantation* 2002; 73(8):1280—1285. DOI: 10.1097/00007890-200204270-00016.
63. Pollack MS, Ririe D. Clinical significance of recipient antibodies to stem cell donor mismatched class I HLA antigens. *Hum Immunol* 2004; 65(3):245—247. DOI: 10.1016/j.humimm.2003.12.010.
64. Narimatsu H, Wake A, Miura Y et al. Successful engraftment in crossmatch-positive HLA-mismatched peripheral blood stem cell transplantation after depletion of antidonor cytotoxic HLA antibodies with rituximab and donor platelet infusion. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36(6):555—556. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705070.

Глава 14.

Протокол забора гемопоэтических стволовых клеток

Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) — это недифференцированные клетки, способные к самовоспроизведению и дифференцировке в любые клетки крови и иммунной системы.

Сегодня терапию с использованием ГСК применяют в лечении заболеваний системы крови и ряда аутоиммунных заболеваний, при этом показания регулярно расширяются и могут включать другие нозологии.

ГСК могут быть получены несколькими методами:

1. Миелоэкспузия костного мозга (КМ).
2. Забор ГСК из периферической крови методом аппаратного цитафереза.
3. Из пуповинной крови.

Забор ГСК (цитаферез мононуклеарных клеток) — полуселективный метод экстракорпоральной гемокоррекции, основанный на разделении плазмы и клеток крови под воздействием центробежной силы и выделении из крови фракции, обогащенной мононуклеарными клетками.

На сегодняшний день в Российской Федерации зарегистрировано несколько моделей сепараторов клеток крови, которые могут быть использованы для забора ГСК. Выбор сепаратора зависит от оборудова-

ния, установленного в медицинской организации, квалификации специалиста, осуществляющего процедуру афереза, а также от состояния донора.

При подготовке и обследовании донора необходимо учитывать, что в течение одной процедуры сепаратором будет обработано минимум 2 объема циркулирующей крови донора, а средняя длительность непрерывной процедуры составляет 4 часа.

Подготовка донора проводится в медицинской организации, осуществляющей забор ГСК, и включает в себя:

1. Лабораторное обследование: иммунологические, молекулярно-генетические исследования, тканевое типирование методами высокого разрешения, а непосредственно перед процедурой афереза — общий анализ крови, содержание CD34+ клеток в периферической крови, коагулограмма, биохимический анализ крови (уровень калия, кальция, общего белка).
2. Выявление у донора медицинских противопоказаний для забора ГСК:
 - Абсолютные: инфекционные заболевания в стадии обострения, наличие в крови маркеров вируса иммунодефицита человека, болезнь Крейтцфельда—Якоба, злокачественные новообразования, кахексия, психические расстройства и расстройства поведения в состоянии обострения и (или) представляющие опасность для больного и окружающих или вызванные употреблением психоактивных веществ, беременность, грудное вскармливание, включая противопоказания к проведению процедуры афереза (тяжелые соматические заболевания в стадии декомпенсации, угрожающие жизни состояния).
 - Относительные:
 - ▲ инфекционные заболевания вне обострения или в анамнезе, в том числе выявление маркеров вирусов гепатитов (за исключением перенесенного гепатита А в анамнезе), сифилиса;
 - ▲ доброкачественные новообразования;
 - ▲ нарушения здоровья, связанные с расстройствами двигательных функций, болезнями сердечно-сосудистой системы, органов пищеварения, органов дыхания, мочеполовой системы, эндокринной системы, болезнями крови, кроветворных органов и отдельными нарушениями, вовлекающими иммунный механизм, психическими расстройствами и сопровождающиеся стойким расстройством функций организма, включая противопоказания к проведению процедуры афереза (состояния, которые можно компенсировать переливанием компонентов крови до процедуры, уровень гемоглобина < 60 г/л, тромбоцитопения $< 20 \times 10^9$ /л).

При наличии у донора относительных медицинских противопоказаний решение об изъятии костного мозга или заборе гемопоэтических стволовых клеток принимается консилиумом врачей медицинской организации, осуществляющей трансплантацию в соответствии с частью 2 статьи 47 Федерального закона № 323-ФЗ.

Допускается забор ГСК у родственного донора, у которого выявлены маркеры вирусов гепатитов, при условии предварительного проведения этиотропного и симптоматического лечения вирусных гепатитов (за исключением перенесенного гепатита А в анамнезе), сифилиса и наличия информированного добровольного согласия пациента.

Перед процедурой афереза необходимо убедиться в возможности периферического венозного доступа через кубитальные вены. В случае неудовлетворительного сосудистого доступа необходимо решить вопрос об установке центрального венозного катетера, который подойдет для сбора на клеточном сепараторе.

Также проводят профилактику цитратной интоксикации (цитратная реакция). Цитратная интоксикация чаще проявляется как ощущения покалывания на губах или в пальцах рук. Для профилактики цитратной интоксикации можно ввести 10 мл 10% раствора кальция глюконата или 5 мл 10% раствора кальция хлорида на каждые 200 мл цитратного раствора (ACD-A) при массе тела пациента < 60 кг или на каждые 400 мл при массе тела > 70 кг. Учитывая, что цитратная интоксикация может быть отсроченной, возможно использование препаратов кальция после процедуры.

Так как около 10% объема полученного концентрата лейкоцитов составляет раствор ACD-A, который препятствует образованию сгустков в контейнере, при сниженном уровне общего или ионизированного кальция у реципиента или возникновении признаков цитратной интоксикации ему показано введение препаратов кальция.

Успешность заготовки во многом зависит от качества мобилизации и дня проведения забора ГСК. Для определения дня забора ГСК следует проводить подсчет количества CD34+ клеток.

Пик выхода ГСК из стромы костного мозга в периферическую кровь приходится на 5-й день мобилизации. В этот момент наблюдается высокое содержание CD34+ клеток в 1 мкл периферической крови. По нашему опыту и опыту ряда исследователей, именно 5-й день от момента начала мобилизации является оптимальным днем забора ГСК, а раннее начало забора, как правило, приводит лишь к увеличению количества процедур афереза и, как следствие, увеличению стоимости лечения. При получении CD34+ клеток ниже целевого значения возможно применение антагонистов CXCR4-рецептора и проведение процедуры забора ГСК на следующий день.

Принципы получения донорских лимфоцитов аналогичны заготовке ГСК, однако лимфоциты допустимо заготавливать от доноров, которым не была проведена «мобилизация» ГСК.

Литература

1. Оспанова М. Е., Рамильева И. Р., Турганбекова А. А. Гемопозитические стволовые клетки. Клиническая медицина Казахстана 2011; 20(1):78—82.
2. Приказ Минздрава России от 12.12.2018 № 875н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи при заболеваниях (состояниях), для лечения которых применяется трансплантация (пересадка) костного мозга и гемопозитических стволовых клеток и внесении изменения в Порядок оказания медицинской помощи по профилю “хирургия (трансплантация органов и (или) тканей человека)”, утвержденный приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 31 октября 2012 г. № 567н».
3. Wuchter P. Processing, cryopreserving and controlling the quality of HSCs. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N (editors). The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. Cham (CH): Springer; 2019. P. 127—130. Available at: https://www.ebmt.org/sites/default/files/2019-01/2019_Book_TheEBMTHandbook.pdf.
4. Афанасьева О. И., Воинов В. А., Гольдфарб Ю. С. и др. Экстракорпоральная гемокоррекция: терминология, языковые соответствия. М.; СПб.: Национальное общество специалистов в области гемафереза и экстракорпоральной гемокоррекции, 2019. 35 с.
5. Spectra optia apheresis system operator's manual, 2018. Available at: www.fda.gov/media/136838/download.
6. Li J, Wang S, Zhang Y et al. Is it better to mobilize hematopoietic stem cells with pegfilgrastim in healthy donors during allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Front Oncol 2020; 10:1598. DOI: 10.3389/fonc.2020.01598.
7. Winkler IG, Wiercinska E, Barbier V et al. Mobilization of hematopoietic stem cells with highest self-renewal by G-CSF precedes clonogenic cell mobilization peak. Exp Hematol 2016; 44(4):303—314. DOI: 10.1016/j.exphem.2016.01.001.

Глава 15.

Эксфузия костного мозга

Общие сведения

Основными источниками гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) являются: костный мозг (содержание ГСК от 1% до 3%), периферическая кровь (содержание ГСК до мобилизации 0,01—0,1%, после мобилизации — до 2%), пуповинная кровь (около 1% ГСК на 38-й неделе беременности) [1]. Клеточный состав трансплантата различается по составу в зависимости от источника ГСК. В трансплантате, полученном из костного мозга, содержатся стволовые кроветворные клетки, все их потомки разной степени зрелости, все дифференцированные клетки крови, а также около 5% стромальных клеток (мезенхимные стволовые клетки и их потомки). В трансплантате, источником которого является периферическая кровь, — на порядок больше зрелых клеток крови (включая Т-лимфоциты) и в 2 раза больше CD34+ клеток, а стромальные клетки практически отсутствуют. В трансплантате, полученном из пуповинной крови, — всегда есть стромальные клетки и эндотелиальные клетки разной степени зрелости, но CD34+ клеток на порядок меньше, чем в трансплантате из костного мозга, и примерно в 3 раза меньше Т-лимфоцитов [2].

В случае, если источником ГСК является костный мозг, проводится операция миелоэксфузии. Заготовка ГСК из периферической

крови выигрывает в сравнении с костным мозгом относительной простотой процедуры, возможностью проведения нескольких сеансов сбора ГСК в случае, если за один сбор заготовить необходимое количество ГСК не удалось, отсутствием рисков от проведения общей анестезии и кровопотери. Несколько работ, включая проспективные рандомизированные исследования, показали, что в случае применения костного мозга как источника ГСК по сравнению с периферической кровью отмечалось более медленное приживление, при этом острая и хроническая реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) наблюдались реже и протекали легче, что в конечном счете сравняло показатели безрецидивной и общей выживаемости [3]. Есть ретроспективные исследования и для трансплантации как аутологичных (ауто-ТГСК), так и для аллогенных ГСК (алло-ТГСК), в которых показана более высокая выживаемость при использовании костного мозга в сравнении с ГСК из периферической крови [4–6].

Однако в связи с тем, что заготовка ГСК путем миелоэкспузии имеет ряд ограничений, на сегодняшний день 70–95% трансплантатов в мире заготавливаются из периферической крови [7].

Обследование донора перед миелоэкспузией

Помимо необходимых исследований, которые проводятся стандартно всем донорам костного мозга на этапе подбора оптимальной пары донор-реципиент (тканевое типирование, оценка вирусологического статуса), непосредственно перед операцией требуется проведение следующих диагностических мероприятий:

- Физикальный осмотр, выявление факторов риска процедуры получения донорских клеток, анестезии, катетеризации центральной вены.
- Сбор анамнеза: принимаемые лекарственные препараты, наличие врожденных заболеваний, перенесенные операции, травмы, наличие хронической сопутствующей патологии, перенесенные онкологические заболевания, злоупотребление алкоголем, курение, прием наркотических веществ, трансфузионный и акушерско-гинекологический анамнез, вакцинации, алергоанамнез.
- Оценка наследственного анамнеза, наличие онкологических и гематологических заболеваний у родственников, аутоиммунных патологий.
- Лабораторные исследования: клинический и биохимический анализы крови — общий белок, альбумин, глобулин, креатинин, мочевины, общий билирубин, щелочная фосфатаза (ЩФ), аланинамино-

трансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), глюкоза крови; коагулограмма — активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), тромбиновое время, фибриноген, международное нормализованное отношение (МНО); общий анализ мочи; группа крови с определением фенотипа резус-фактора и аллоиммунных антител; для женщин — хорионический гонадотропин.

- Инфекционный контроль: определение маркеров вирусных гепатитов В и С — поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), антитела к HBsAg (анти-HBs), антитела к ядерному антигену вируса гепатита В (анти-HBc), антитела к е-антигену вируса гепатита В (анти-HBe), антитела к вирусу гепатита С (анти-HCV), определение методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) вирусов гепатита В и С, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), реакция Вассермана.
- Рентгенография легких, оценка функции внешнего дыхания, электрокардиография (ЭКГ).
- Рекомендации для доноров перед госпитализацией для проведения операции миелоэкспузии:
 - ▲ исключить прием препаратов, способных вызвать миелосупрессию;
 - ▲ исключить прием ацетилсалициловой кислоты / антикоагулянтов как минимум за 3 дня.

Методика праймирования костного мозга

После открытия гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) в 2000—2005 гг. было исследовано использование костного мозга, собранного после 2—4 дней введения Г-КСФ. Применение Г-КСФ перед сбором костного мозга приводит к получению трансплантата с большим количеством собранных мононуклеарных клеток, CD34+ клеток и клеток-предшественников [8]. Праймированный костный мозг ускоряет приживание трансплантата как при ауто-, так и при алло-ТГСК с возможным (но недоказанным) снижением частоты и тяжести РТПХ. В настоящее время его используют редко, но для некоторых трансплантационных команд он является предпочтительным источником ГСК или частью в комбинации праймированного костного мозга с ГСК из периферической крови в качестве источника стволовых клеток для трансплантации от гаплоидентичного донора [9, 10].

Техника сбора костного мозга и влияние дозы ядросодержащих клеток в трансплантате

Миелоэкспузия проводится в условиях операционной с соблюдением всех стандартных правил асептики и антисептики при работе в операционной. Бригада врачей состоит из трех человек — сертифицированных гематологов или онкологов, обладающих необходимыми навыками по выполнению процедуры биопсии и аспирации костного мозга в том числе из подвздошных костей. Два врача выполняют непосредственно забор костного мозга из подвздошных костей, и один врач заполняет подготовленные специальные контейнеры для сбора костномозговой взвеси в случае отсутствия автоматизированной системы перемещения костного мозга в контейнер. Костный мозг забирают из задних верхних гребней подвздошных костей в условиях общей анестезии. Некоторые бригады используют эпидуральную анестезию. Костный мозг аспирируется костными иглами с множеством отверстий по всему периметру, что облегчает сбор и ускоряет процедуру. Во избежание большого разбавления кровью, прежде чем переносить аспират через трехходовой кран в контейнер для сбора, рекомендуется ограничить каждую аспирацию объемом в 5 мл. Контейнер для сбора содержит раствор одного из антикоагулянтов: ACD (acid citrate dextrose — глюкоза + натрия цитрат) или CPDA (citrate phosphate dextrose adenine — цитроглюкофосфат-аденин), а шприцы промывают гепарином (5000 ЕД/мл). Допустимо добавление в контейнеры с цитратом дополнительно гепарина 10 000 ЕД. В настоящее время цель состоит в том, чтобы получить не менее 3×10^8 ядросодержащих клеток на 1 кг веса реципиента. Хотя следует отметить, что ранее достаточным количеством считалось 2×10^8 ядросодержащих клеток на 1 кг веса реципиента. Эти показатели клеточности остаются приемлемыми и на сегодняшний день. Однако нужно учитывать, что, по результатам исследований предыдущих лет, большее количество ядросодержащих клеток улучшает такие показатели, как общая и безрецидивная выживаемость, время до восстановления числа нейтрофилов и тромбоцитов, а также снижает частоту развития РТПХ [6, 11, 12].

Если поставленная цель не может быть достигнута, можно произвести дополнительный сбор из передних гребней подвздошных костей, хотя это требует много времени и может принести вред донору, которого необходимо перевернуть на операционном столе с соблюдением стерильности операционных полей.

Принимая во внимание все обстоятельства, максимально допустимый собранный объем костномозговой взвеси не должен превышать

20 мл на 1 кг веса донора [7]. В зависимости от собранного конечного объема костномозговой взвеси и, следовательно, кровопотери придерживаются трех подходов к возмещению потерь объема циркулирующей крови (ОЦК): 1) замещение ОЦК инфузией солевых растворов; 2) трансфузия аутоэритроцитов, которые желательно заготавливать за 3 недели до миелоэксфузии, что добавляет некоторые ограничения; 3) в редких случаях проводится трансфузия донорских эритроцитов, что является наименее желательным по причине риска посттрансфузионных реакций и осложнений.

Осложнения забора костного мозга

Нельзя игнорировать, что при заборе костного мозга, хотя и крайне редко, но есть две основные опасности — это смерть, связанная с применением общей анестезии ($< 1/200\ 000$), и тяжелое повреждение органов в результате неправильного механического обращения с пункционными иглами, которые могут соскользнуть, если нет достаточного опыта и настороженности. Сотрудниками Национального регистра доноров костного мозга США (National Marrow Donor Program — NMDP) был проведен анализ в 1993 г. В исследование было включено 493 добровольца, которым была выполнена миелоэксфузия в 42 центрах [13]. Средний объем собранного костного мозга составил 1050 мл (от 180 до 2983 мл). Трансфузия аутологичных эритроцитов проводилась 90% доноров, трем донорам была перелита донорская кровь. Апноэ во время анестезии возникло у одного донора. Другие острые осложнения, связанные с процедурой сбора, возникли у 6% доноров. После забора костного мозга 75% доноров испытывали усталость, 68% — боль в месте забора костного мозга, а 52% — боль в пояснице. Среднее время восстановления составило 16 дней, но 42 донора считают, что для полного выздоровления им потребовалось не менее 30 дней.

Контроль качества сбора и криоконсервации костного мозга

Основным показателем успешного сбора костного мозга является собранное количество ядросодержащих клеток. Очень часто в середине миелоэксфузии выполняется промежуточный контроль количества уже собранных ядросодержащих клеток. Оценка CD34+ клеток в костном мозге может не проводиться, так как не имеет практической ценности для дальнейшей тактики. Для определения жизнеспособности криоконсервированного костного мозга зачастую используют параллельную

заготовку мини-контейнеров или пробирок («спутник»), что позволяет проверить жизнеспособность трансплантата перед размораживанием основного заготовленного криоконсервированного контейнера (обычно аутотрансплантата). Однако важно учитывать что при сравнении показателей жизнеспособности клеток в контейнере и «спутнике» наблюдались несоответствия, обусловленные различием в скорости охлаждения, не позволяющие использовать «спутники» в качестве надежного показателя качества криоконсервации костного мозга [14].

Литература

1. Афанасьев Б. В., Зубаровская Л. С., Моисеев И. С. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: настоящее, проблемы, перспективы. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2015; 2:28—42.
2. Ratajczak MZ, Suszynska M, Pedziwiatr D et al. Umbilical cord blood-derived very small embryonic like stem cells (vsels) as a source of pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Pediatr Endocrinol Rev* 2012; 9(3):639—643.
3. Schmitz N, Beksac M, Bacigalupo A et al. Filgrastim-mobilized peripheral blood progenitor cells versus bone marrow transplantation for treating leukemia: 3-year results from the EBMT randomized trial. *Haematologica* 2005; 90(5):643—648.
4. Gorin NC, Labopin M, Blaise D et al. Higher incidence of relapse with peripheral blood rather than marrow as a source of stem cells in adults with acute myelocytic leukemia, but not in adults with acute lymphocytic leukemia autografted during the first remission. *J Clin Oncol* 2009; 27(24):3987—3993.
5. Gorin NC, Labopin M, Reiffers J et al. Higher incidence of relapse in patients with acute myelocytic leukemia infused with higher doses of CD34+ cells from leukapheresis products autografted during the first remission. *Blood* 2010; 116(17):3157—3162.
6. Gorin NC, Labopin M, Rocha V et al. Marrow versus peripheral blood for gene-identical allogeneic stem cell transplantation in acute myelocytic leukemia: Influence of dose and stem cell source shows better outcome with rich marrow. *Blood* 2003; 102(8):3043—3051.
7. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N (editors). The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019.
8. Grupp SA, Frangoul H, Wall D et al. Use of G-CSF in matched sibling donor pediatric allogeneic transplantation: A consensus statement from the Children's Oncology Group (COG) Transplant Discipline Committee and Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium (PBMTTC) Executive Committee. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46(4):414—421.
9. Huang XJ, Liu DH, Liu KY et al. Treatment of acute leukemia with unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15(2):257—265.

10. Lv M, Zhao XS, Hu Y et al. Monocytic and promyelocytic myeloid-derived suppressor cells may contribute to G-CSF-induced immune tolerance in haplo-identical allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2015; 90(1):E9—E16.
11. Gorin NC, Labopin M, Laporte JP et al. Importance of marrow dose on post-transplant outcome in acute leukemia: models derived from patients autografted with mafosfamide-purged marrow at a single institution. *Exp Hematol* 1999; 27(12):1822—1830.
12. Sierra J, Storer B, Hansen JA et al. Transplantation of marrow cells from unrelated donors for treatment of high-risk acute leukemia: The effect of leukemic burden, donor HLA-matching, and marrow cell dose. *Blood* 1997; 89(11): 4226—4235.
13. Stroncek DF, Holland PV, Bartch G et al. Experiences of the first 493 unrelated marrow donors in the National Marrow Donor Program. *Blood* 1993; 81(7): 1940—1946.
14. Douay L, Lopez M, Gorin NC. A technical bias: differences in cooling rates prevent ampoules from being a reliable index of stem cell cryopreservation in large volumes. *Cryobiology* 1986; 23(4):296—301.

И. В. Гальцева, Ю. О. Давыдова, Н. М. Капранов,
К. А. Никифорова, Е. Н. Паровичникова

Глава 16.

Методика подсчета CD34-положительных гемопозитических стволовых клеток в периферической крови и трансплантате

Введение

Для гематологических злокачественных новообразований трансплантация аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) является потенциально излечивающим вариантом лечения в качестве консолидации после химиотерапии. Выполнение алло-ТГСК является эффективной тактикой терапии больных лимфомой клеток мантии, в том числе с мутациями в гене *TP53* [1], другими неходжкинскими лимфомами (НХЛ), хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) [2], острыми лейкозами [3].

Первая аллогенная трансплантация от донора реципиенту была проведена американским врачом-трансплантологом Эдвардом Донналлом Томасом в 1957 г. Шести пациентам с гемобластомами после кондиционирования, включающего облучение или интенсивную химиотерапию, внутривенно вводили костный мозг от здоровых доноров, после чего у пациентов происходило восстановление показателей периферической крови (количества нейтрофилов, тромбоцитов, уровня гемоглобина), а циркулирующие эритроциты были представлены клетками донорского типа [4]. Таким образом, наблюдалось приживление трансплантата — костного мозга донора. В многочисленных экспериментах с лабораторными животными показано, что в костном мозге присутствуют клетки, которые после трансфузии в кровеносное русло реципиента способны

заселять костномозговые ниши и инициировать пролиферацию и дифференцировку клеток всех ростков кроветворения. Эти клетки называются гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК) [5].

ГСК способны мигрировать из костного мозга в периферическую кровь и обратно. Впервые предположение о наличии в периферической крови клеток с «мультипотентным характером» было высказано в 1950-х годах [6]. В экспериментах на крысах показано, что при летальном тотальном облучении тела ГСК от экранированных областей способны через кровеносное русло заселить костный мозг облученных областей [7]. В другом исследовании было показано, что крысы могут пережить смертельную дозу радиации, если соединить их кровеносную систему с кровеносной системой необлученного сиблинга [8]. Павианы, подвергшиеся тотальному облучению всего тела, при комбинации с поддерживающей терапией умерли в течение 8 дней от глубокой гипоплазии костного мозга, в то время как павианы, имевшие перекрестную циркуляцию крови с необлученными партнерами, умерли в течение 14 дней с признаками реакции «трансплантат против хозяина» [9]. В результате этих экспериментов уже в начале 1960-х годов была сформулирована гипотеза, предполагающая использование ГСК периферической крови в качестве трансплантата [10].

Однако ГСК присутствуют в крови в очень малом количестве (в пределах 0,01—0,1%) [11]. Поэтому было предложено проводить процедуру лейкафереза для концентрирования лейкоцитов. В 1971 г. были обнаружены колониеобразующие единицы в продукте лейкафереза (лейкоконцентрате), количество которых превышало число колоний, выросших при культивировании образцов периферической крови без процедуры лейкафереза [12].

Воздействие ряда веществ, например гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора (Г-КСФ), приводит к значительному увеличению количества циркулирующих в периферической крови ГСК. Резкое увеличение количества ГСК в периферической крови под воздействием ростовых факторов называют мобилизацией. В случае мобилизации ГСК сначала происходит усиление пролиферации ранних предшественников в нишах костного мозга, а затем усиление их миграции в кровотоки [13].

Таким образом, в клинической практике в качестве источников аллогенных ГСК применяется два типа трансплантатов: костный мозг и мобилизованные ГСК периферической крови. Эти трансплантаты отличаются не только содержанием ГСК, но и клеточным составом в целом [14], что обуславливает разные сроки приживления трансплантата и восстановления кроветворения реципиента, а также частоту и спектр побочных эффектов аллогенной трансплантации.

Определение количества гемопоэтических стволовых клеток

Способность трансплантата к приживлению зависит от количества ГСК, которое он содержит. Одним из наиболее ранних методов оценки качества трансплантата и косвенного определения содержащихся ГСК был метод, основанный на подсчете количества колониеобразующих единиц, в частности более поздних линейно-коммитированных гемопоэтических предшественников — колониеобразующих единиц гранулоцитарно-макрофагальных (КОЕ-ГМ). Недостаток этого метода заключался в отсутствии стандартизации. Вариации в условиях культивирования делали результаты, полученные из разных лабораторий, трудносопоставимыми. Главным ограничением этого метода также было время до получения результата, которое составляло 10—14 дней [11].

Уникальный и абсолютно специфичный маркер ГСК до настоящего времени не обнаружен. Традиционно индикатором ГСК считают наличие поверхностной экспрессии кластера дифференцировки 34 (cluster of differentiation 34, CD34). CD34 — это сиаломуциноподобная молекула адгезии. Следует иметь в виду, что CD34 — это не строго специфичный маркер ГСК и обнаруживается помимо ГСК и на более коммитированных гемопоэтических предшественниках, а также на клетках эндотелия сосудов. Также CD34 может быть использован в качестве маркера для идентификации других тканеспецифичных стволовых клеток, включая мышечные сателлитные клетки и эпидермальные предшественники [15].

Хорошо изучена функция CD34 на эндотелиальных клетках, где он содействует адгезии лимфоцитов к специализированному эндотелию сосудов в лимфоидных тканях. При этом функции, которые выполняет CD34 на ГСК, остаются не до конца изученными. Считается, что молекула адгезии CD34 участвует в повышении пролиферации и/или блокировании дифференцировки клеток. Так, у CD34-нокаутированных мышей снижено количество гемопоэтических предшественников, которые к тому же обладают дефектом пролиферации. Однако у таких мышей не наблюдается снижения абсолютного содержания зрелых клеток крови [15]. Возможно, это связано с существованием CD34-отрицательных ГСК [16, 17].

Количество CD34-позитивных (CD34⁺) ГСК, определяемое методом проточной цитометрии, является наиболее оптимальным индикатором способности трансплантата к восстановлению гемопоэза у реципиента [18].

И определение КОЕ-ГМ, и подсчет количества CD34⁺ ГСК методом проточной цитометрии требуют профессионального навыка, поэтому

некоторые трансплантационные центры в прошлом рекомендовали ограничиваться подсчетом моноклеарных клеток (МНК). Считалось, что достаточным является сбор МНК в количестве $4\text{--}6 \times 10^8$ на 1 кг массы пациента (/кг). Однако было показано, что количество МНК плохо коррелирует с восстановлением клеток периферической крови [19]. В исследовании Fernandez и соавт. ни количество КОЕ-ГМ, ни количество МНК не было связано со временем до восстановления нейтрофилов и тромбоцитов [20].

Bender и соавт. показали, что быстрое приживление трансплантата достигается, когда трансплантат содержит 20×10^4 /кг КОЕ-ГМ или 2×10^6 /кг CD34⁺ ГСК [18]. В исследовании Bensinger и соавт. у пациентов, которым было перелито $2,5\text{--}5 \times 10^6$ /кг CD34⁺ ГСК и более 5×10^6 /кг CD34⁺ ГСК, различий во времени до момента восстановления нейтрофилов не было, но тромбоциты восстанавливались быстрее [21]. Tricot и соавт. исследовали 225 пациентов с множественной миеломой, которым после химиотерапии выполняли трансплантацию аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Было обнаружено, что для пациентов, получавших цитотоксическую химиотерапию ≤ 24 месяцев, для быстрого восстановления количества тромбоцитов ($\geq 50 \times 10^9$ /л к 21-му дню) достаточным было введение 2×10^6 /кг CD34⁺ ГСК, в то время как пациентам, находившимся на терапии ≥ 24 месяцев, необходимо было введение $> 5 \times 10^6$ /кг CD34⁺ ГСК [22]. Remberger и соавт., изучив эффект дозы CD34⁺ клеток на исход ТГСК, заключили, что при введении $6\text{--}7 \times 10^6$ /кг CD34⁺ улучшается общая выживаемость и уменьшается смертность, связанная с трансплантацией. При введении $< 5 \times 10^6$ /кг CD34⁺ чаще развивались рецидив и хроническая реакция «трансплантат против хозяина» (хРТПХ) [23]. В то же время при сверхвысоких дозах ($\geq 11 \times 10^6$ /кг) CD34⁺ ГСК происходило снижение выживаемости и увеличивалась частота рецидивов [24].

Таким образом, рядом исследований было показано, что скорость восстановления параметров периферической крови после трансплантации зависит от содержания CD34⁺ ГСК в трансплантате. На текущий момент признано, что в большинстве случаев для адекватного восстановления кроветворения достаточным является введение $2\text{--}5 \times 10^6$ /кг CD34⁺ ГСК [21, 20, 25].

Но не только определение количества CD34⁺ ГСК непосредственно в трансплантате является важным. Необходимо определять количество ГСК и в периферической крови непосредственно перед началом первой процедуры лейкафереза, чтобы можно было прогнозировать количество CD34⁺ ГСК в лейкоконцентрате и эффективность этой дорогостоящей процедуры.

Процесс заготовки ГСК периферической крови включает следующие этапы:

1. Введение мобилизующих препаратов, таких как Г-КСФ. В течение этого этапа в крови увеличивается количество лейкоцитов и количество ГСК.

2. Подсчет ГСК в периферической крови на 4—5-й дни мобилизации. Наиболее оптимальный вариант — сбор необходимого количества стволовых клеток ($\geq 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34⁺ ГСК) за одну процедуру лейкофереза. Но часто для сбора необходимого числа CD34⁺ ГСК может потребоваться несколько процедур лейкофереза. Если сбор ГСК начат слишком рано, то может потребоваться большее количество процедур лейкофереза, что увеличивает финансовые и временные затраты. Факторами, повышающими эффективность мобилизации CD34⁺ клеток, являются мужской пол, более высокий индекс массы тела, большая доза Г-КСФ, более высокий уровень лейкоцитов до мобилизации и использование в качестве мобилизующего препарата ленограстима, а не филграстима [26].

При обнаружении более 20 CD34⁺ ГСК в 1 мкл периферической крови целесообразно начинать процедуру лейкофереза. В этом случае высока того, что удастся вероятность заготовить более $2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34⁺ ГСК за 1—2 процедуры [27, 28]. Если количество CD34⁺ ГСК в периферической крови менее 20/мкл, то рекомендуется лейкоферез не проводить, продолжить мобилизацию и повторить подсчет CD34⁺ ГСК в периферической крови на следующий день.

3. Проведение процедуры лейкофереза, процессинг лейкоконцентрата.

4. Подсчет количества заготовленных CD34⁺ ГСК в лейкоконцентрате. Если за одну процедуру не удалось собрать $2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34⁺ ГСК, то мобилизацию продолжают и повторяют процедуру лейкофереза на следующий день. В этом случае определять количество CD34⁺ ГСК в крови перед сбором необязательно.

В 1996 г. сообществом ISHAGE (International Society for Hematotherapy and Graft Engineering) был разработан протокол определения количества CD34⁺ ГСК в биологических образцах методом проточной цитофлуориметрии. В данном протоколе описаны пробоподготовка, подбор реактивов и стратегия гейтирования [11, 29]. Ниже мы приводим адаптированную версию этого протокола, применяемую в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ.

Для осуществления исследования необходимо наличие двух моноклональных антител: против антигена CD34 и против антигена CD45. CD45 — это панлейкоцитарный антиген, который **не** обнаруживается на эритроцитах, ретикулоцитах, эритрокариоцитах, тромбоцитах, эндотелиальных клетках. CD45 экспрессируется на всех лейкоцитах, при

этом плотность экспрессии — наибольшая на лимфоцитах, средняя — на моноцитах и базофилах и более слабая — на нейтрофилах и ГСК. Так как CD34⁺ ГСК — это редко встречающиеся клетки, то рекомендуется использовать антитела против CD34, меченные «ярким» флуорохромом, например фикоэритрином. Кроме того, необходимо использовать антитела против CD34 класса III (клоны 8G12, HPCA-2 или 581). Рекомендуются антитела против CD45, меченные более слабым флуорохромом, например флуоресцеина изотиоцианатом, а среди клонов отдается предпочтение 2D1 или J33. Помимо моноклональных антител необходимо использовать также 7-аминоактиномицин D (7-AAD) — краситель, применяющийся для оценки жизнеспособности клеток, при этом окрашивающиеся 7-AAD клетки являются нежизнеспособными [29].

Наиболее оптимальным является применение лизиса эритроцитов после инкубации с моноклональными антителами без последующей отмывки, что позволяет минимизировать потери клеток при пробоподготовке.

1. К анализируемому образцу периферической крови, костного мозга или лейкоконцентрата добавляются моноклональные антитела и 7-AAD, проводится инкубация 15—20 минут в темноте при комнатной температуре.
2. Затем добавляется лизирующий раствор на основе хлорида аммония без фиксатора. Время лизиса выдерживается в соответствии с инструкцией производителя.
3. Сразу после лизиса эритроцитов образец анализируют на проточном цитофлуориметре в течение 1 часа. Хранить образцы до сбора рекомендуется в воде со льдом в темноте.

Существует два подхода к определению абсолютного количества CD34⁺ ГСК в образце.

1. Двухплатформенный метод, который включает определение доли CD34⁺ ГСК относительно всех лейкоцитов (CD45-положительных событий) с помощью проточного цитофлуориметра и подсчет абсолютного количества лейкоцитов с помощью гематологического анализатора. После этого производится расчет абсолютного содержания CD34⁺ ГСК в 1 мкл.
2. Одноплатформенный метод, в котором используются специальные пробирки с фиксированным количеством лиофилизированных флуоресцентных гранул.

Последовательность гейтирования (согласно протоколу ISHAGE) проиллюстрирована на рис. 1. На рисунке не представлены предварительные этапы гейтирования, общие для всех цитометрических исследований, а именно: выделение всех событий на графике линейных

шкал бокового и прямого светорассеяния друг против друга (единичных событий и всех клеток) и гейтирование жизнеспособных клеток, не связавших 7-AAD. Далее из всех проанализированных событий выбираются CD45-положительные клетки (CD45⁺) на точечной диаграмме бокового светорассеяния (SSC — side scatter) против CD45 с помощью гейта «лейкоциты» (рис. 1, А). При выборе данных клеток следует иметь в виду, что CD34⁺ ГСК имеют слабую экспрессию CD45, поэтому гейт рекомендуется ставить так, чтобы не отсеять искомые клетки. Затем на диаграмме SSC против CD34 отбираются все CD34⁺ клетки. Экспрессия CD34 уменьшается по мере созревания клетки: наиболее высокая экспрессия характерна для истинно стволовых и полипотентных стволовых клеток, более слабая — для унипотентных частично коммитированных клеток-предшественниц. Для подсчета необходимо выбрать все CD34⁺ клетки независимо от степени экспрессии (рис. 1, Б). На следующем этапе проводится «обратное» гейтирование: выделенные CD34⁺ клетки отображаются вновь на диаграмме SSC против CD45 (рис. 1, В). Здесь необходимо исключить события с высокой экспрессией CD45 — это лимфоциты и моноциты,

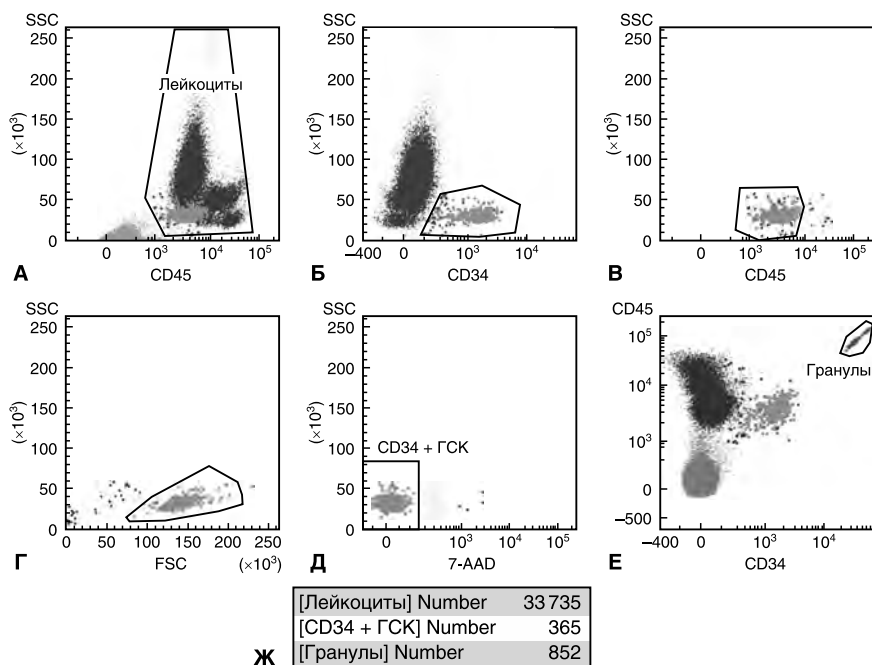


Рисунок 1. Стратегия гейтирования, применяемая для определения количества CD34⁺ ГСК. А—Д: двухплатформенный метод. А—Е: одноплатформенный метод. Объяснение в тексте.

которые неспецифически окрасились моноклональным антителом к CD34. Далее на диаграмме прямого светорассеяния (FSC — forward scatter) против SSC отсекаются события с низкими параметрами FSC и/или SSC, которые являются обломками клеток, так называемым дедбрисом (рис. 1, Г). На этом же этапе нужно отсекал события со слишком высокими значениями FSC и/или SSC, так как ГСК имеют размеры, близкие к размерам лимфоцитов. Дополнительно можно проверить выделенные CD34⁺ клетки, показав их на графике SSC против 7-AAD — все они не должны окрашиваться (рис. 1, Д). Если используется одноплатформенный метод, то в дополнение ко всем выше обозначенным этапам необходимо также выделить лиофилизированные флюоресцентные гранулы на диаграмме CD34 против CD45 (рис. 1, Е). Для достаточной точности анализа рекомендуется проанализировать по крайней мере 100 CD34⁺ ГСК и/или 75 000 CD45⁺ клеток [11].

Далее рассмотрим расчет абсолютного содержания CD34⁺ ГСК в биологическом образце двумя методами.

1. *Двухплатформенный метод.* Как было указано ранее, для определения CD34⁺ ГСК двухплатформенным методом необходимо знать абсолютное число лейкоцитов в образце (АЧЛ) и долю CD34⁺ ГСК среди лейкоцитов (%CD34⁺ ГСК). На рис. 1, Ж показано, что при анализе образца было проанализировано 33 735 лейкоцитов, среди которых присутствует 365 CD34⁺ ГСК, тогда их доля составит: $365 \div 33\,735 \times 100\% = 1,08\%$. АЧЛ в образце составило $9,8 \times 10^9/\text{л}$. Для расчета абсолютного количества CD34⁺ ГСК удобна следующая формула:

Абсолютное количество CD34⁺ ГСК (мкл) = %CD34⁺ ГСК $\times$ 10 $\times$ АЧЛ,

где АЧЛ сокращено до числа, стоящего до $\times 10^9/\text{л}$. Тогда в данном примере получаем, что абсолютное количество CD34⁺ ГСК в образце составляет: $9,8 \times 1,08 \times 10 = 105,8/\text{мкл}$.

2. *Одноплатформенный метод.* Пересчет абсолютного количества CD34⁺ ГСК производится по формуле:

$$\begin{aligned} &\text{Абсолютное количество CD34}^+ \text{ ГСК} = \\ &= \frac{\text{Число CD34}^+ \text{ ГСК в гейте} \times \text{Число гранул в пробирке}}{\text{Число гранул в гейте} \times \text{Объем образца}}. \end{aligned}$$

В данном примере число CD34⁺ ГСК в гейте составило 365, число гранул в гейте — 1852 (рис. 1, Ж), а число гранул в пробирке — 53 550 (указывается производителем). В анализ было взято 100 мкл образца. Тогда абсолютное количество CD34⁺ ГСК составляет: $(365 \times 53\,550 \div 1852) \div 100 \text{ мкл} = 105,5/\text{мкл}$.

После получения лейкоконцентрата определяют количество CD34⁺ ГСК, которое он содержит. Для этого необходимо получить следующие величины: долю CD34⁺ ГСК среди всех CD45⁺ клеток, общее количество ядросодержащих клеток, объем лейкоконцентрата (ЛК) и массу тела больного. Для подсчета общего содержания ядросодержащих клеток в лейкоконцентрате в асептических условиях берут пробу лейкоконцентрата в микропробирку и разбавляют 0,9% раствором хлорида натрия в отношении 1:9 и определяют АЧЛ ($\times 10^9/\text{л}$) с помощью гематологического анализатора. Далее находят массу заготовленного ЛК. Взвешивают контейнер с ГСК на медицинских весах и, считая, что его плотность равна 1000 г/см^3 , переводят найденную массу в объем (мл) по формуле $1 \text{ г} = 1 \text{ мл}$.

$$\begin{aligned} & \text{Количество ядросодержащих клеток в ЛК } (\times 10^6) = \\ & = \frac{\text{АЧЛ } (\times 10^9/\text{л}) \times \text{Объем ЛК (мл)} \times 10}{1000}. \end{aligned}$$

Далее можно подсчитать количество заготовленных в лейкоконцентрате CD34⁺ ($\times 10^6$ клеток) ГСК на 1 кг массы тела больного (реципиента):

$$\begin{aligned} & \text{Количество CD34}^+ \text{ клеток/кг} = \\ & = \frac{\% \text{CD34}^+ \times \text{Количество ядросодержащих клеток в ЛК}}{100 \times \text{Масса пациента (реципиента)}}. \end{aligned}$$

Есть также упрощенная формула для расчета:

$$\text{Количество CD34}^+ \text{ клеток/кг} = \frac{\text{АЧЛ} \times \% \text{CD34}^+ \times \text{Масса ЛК}}{10 \times \text{Масса пациента (реципиента)}},$$

где АЧЛ сокращено до числа, стоящего до $\times 10^9/\text{л}$, и определено в разведенном в 10 раз лейкоконцентрате, а масса ЛК берется без размерности.

Влияние криоконсервации трансплантата на содержание CD34⁺ ГСК

Криоконсервация является единственным возможным способом обеспечить длительное, до 14,5 года [30], хранение ГСК. Однако все процедуры заморозки, разморозки и оттаивания трансплантата неизбежно будут приводить к гибели клеток.

Desoutter и соавт. с помощью 7-AAD и нецитотоксического флуоресцентно меченного ингибитора каспаз (FLICA), ковалентно связывающегося только с активными ферментами каспаз, оценили апоптоз

в 46 образцах аутологичных стволовых клеток, полученных из периферической крови. Во всех пробах трансплантатов после разморозки выявили увеличение опосредованного каспазами апоптоза CD34⁺ клеток в среднем до 23% ($23,5 \pm 2,1$), в то время как в свежих образцах FLICA⁺ клетки составляли не более 2% ($1,9 \pm 0,4$). Авторы не обнаружили связи между длительностью посттрансплантационной аплазии и долей клеток в апоптозе в реинфузированных трансплантатах [31]. В то же время Wu и соавт., измерявшие долю клеток в апоптозе при помощи сочетания аннексина-V и 7-AAD, обнаружили, что у больных, в трансплантате которых было больше лейкоцитов в состоянии апоптоза, медленнее восстанавливалось количество нейтрофилов [32].

На уровень апоптоза после разморозки также может оказывать влияние дегрануляция гранулоцитов. В ряде работ была обнаружена значительная отрицательная корреляция между процентным содержанием гранулоцитов в продукте афереза до замораживания и жизнеспособностью ядродержащих клеток после оттаивания [30], что, вероятно, обусловлено высвобождением эластазы, миелопероксидазы, катепсинов и дефенсинов.

Литература

1. Королева Д. А., Щецова О. О., Дроков М. Ю. и др. Собственный опыт трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток крови у больных с TP53-мутированными формами ЛКМ. Гематология и трансфузиология 2022; 67(S2):224.
2. Королева Д. А., Дроков М. Ю., Щецова О. О. и др. Результаты выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) у больных агрессивными В- и Т-клеточными лимфомами. Гематология и трансфузиология 2022; 67(S2):224—225.
3. Forman SJ, Blume KG, Thomas E. Bone marrow transplantation. Wiley-Blackwell, 1994.
4. Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. N Engl J Med 1957; 257(11):491—496.
5. Boisset JC, Robin C. On the origin of hematopoietic stem cells: Progress and controversy. Stem Cell Research 2012; 8(1):1—13.
6. Bond VP, Cronkite EP, Fliedner TM, Schork P. Deoxyribonucleic acid synthesizing cells in peripheral blood of normal human beings. Science 1958; 128(3317): 202—203.
7. Swift MN, Taketa ST, Bond VP. Efficacy of hematopoietic protective procedure in rats x-irradiated with intestine shielded. Radiat Res 1956; 4(3):186—192.
8. Brecher G, Cronkite EP. Post-radiation parabiosis and survival in rats. Proc Soc Exp Biol Med 1951; 77(2):292—294.

9. Storb R, Graham TC, Epstein RB et al. Demonstration of hemopoietic stem cells in the peripheral blood of baboons by cross circulation. *Blood* 1977; 50(3): 537—542.
10. Goodman J, Hodgson G. Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood* 1962; 19(6):702—714.
11. Sutherland DR, Anderson L, Keeney M et al. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *J Hematother* 1996; 5(3): 213—226.
12. McCredie KB, Hersh EM, Freireich EJ. Cells capable of colony formation in the peripheral blood of man. *Science* 1971; 171(3968):293—294.
13. Körbling M, Freireich EJ. Twenty-five years of peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 2011; 117(24):6411—6416.
14. Афанасьев Б. В., Зубаровская Л. С., Моисеев И. С. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: настоящее, проблемы, перспективы. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2015; 2(2):28—42.
15. Nielsen JS, McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J Cell Sci* 2008; 121(24):3682—3692.
16. Nakauchi H. Hematopoietic stem cells: Are they CD34-positive or CD34-negative? *Nat Med* 1998; 4(9):1009—1010.
17. Engelhardt M, Lübbert M, Guo Y. CD34+ or CD34-: Which is the more primitive? *Leukemia* 2002; 16(9):1603—1608.
18. Bender JG, To LB, Williams S, Schwartzberg LS. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *J Hematother* 1992; 1(4):329—341.
19. Demirel T, Dean Buckner C, Bensinger WI. Optimization of peripheral blood stem cell mobilization. *Stem Cells* 1996; 14(1):106—116.
20. Fernandez HF, Noto TA, Morrell L et al. Early engraftment of mobilized autologous peripheral-blood progenitor cells collected by large-volume leukapheresis. *Blood* 1994; 84(Suppl 1):A94.
21. Bensinger W, Appelbaum F, Rowley S et al. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. *J Clin Oncol* 1995; 13(10):2547—2555.
22. Tricot G, Jagannath S, Vesole D et al. Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. *Blood* 1995; 85(2):588—596.
23. Remberger M, Grønvold B, Ali M et al. The CD34+ cell dose matters in hematopoietic stem cell transplantation with peripheral blood stem cells from sibling donors. *Clin Hematol Int* 2020; 2(2):74—81.
24. Remberger M, Törlén J, Ringdén O et al. Effect of total nucleated and CD34+ cell dose on outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(5):889—893.
25. Bender JG, To LB, Williams S, Schwartzberg LS. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *J Hematother* 1992; 1(4):329—341.
26. Anguita-Compagnon AT, Dibarrart MT, Palma J et al. Mobilization and collection of peripheral blood stem cells: guidelines for blood volume to process, based

- on CD34-positive blood cell count in adults and children. *Transplant Proc* 2010; 42(1):339—344.
27. Гальцева И. В., Давыдова Ю. О., Гапонова Т. В. и др. Абсолютное количество гемопоэтических стволовых клеток CD34+ в периферической крови перед процедурой лейкафереза как параметр, прогнозирующий эффективность сбора стволовых клеток. *Терапевтический архив* 2017; 89(7):18—24.
 28. Mohty M, Hübel K, Kröger N et al. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: A position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49(7):865—872.
 29. Barnett D, Janossy G, Lubenko A et al. Guideline for the flow cytometric enumeration of CD34+ haematopoietic stem cells. Prepared by the CD34+ haematopoietic stem cell working party. General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. *Clin Lab Haematol* 1999; 21(5): 301—308.
 30. Winter JM, Jacobson P, Bullough B et al. Long-term effects of cryopreservation on clinically prepared hematopoietic progenitor cell products. *Cytotherapy* 2014; 16(7):965—975.
 31. Desoutter J, Ossart C, Lacassagne MN et al. Cryopreservation and thawing of hematopoietic stem cell CD34-induced apoptosis through caspase pathway activation: Key role of granulocytes. *Cytotherapy* 2019; 21(6):612—618.
 32. Wu L, Al-Hejazi A, Filion L et al. Increased apoptosis in cryopreserved autologous hematopoietic progenitor cells collected by apheresis and delayed neutrophil recovery after transplantation: a nested case-control study. *Cytotherapy* 2012; 14(2):205—214.

И. В. Гальцева, Ю. О. Давыдова, Н. М. Капранов,
К. А. Никифорова

Глава 17.

Методика подсчета CD3-положительных клеток в трансплантате

Выполнение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) для многих пациентов является шансом на выздоровление, однако алло-ТГСК может приводить к тяжелым иммунологическим осложнениям, таким как реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) или отторжение трансплантата. Частота развития острой РТПХ (оРТПХ), по различным литературным данным, достигает 60% [1—4], хронической РТПХ — 30—40% [5]. Вероятность отторжения трансплантата достигает 5—7% и в значительной степени зависит от HLA-совместимости донора и реципиента [6]. Высокая смертность после алло-ТГСК также связана с вирусными инфекциями после трансплантации. Кроме того, после алло-ТГСК может развиваться рецидив основного гематологического заболевания (в 30—45% случаев) [7, 8], и для решения этой проблемы могут быть применены лимфоциты донора.

На практике инфузия лимфоцитов донора впервые была осуществлена в 1990 г. Kolb и коллегами для лечения молекулярного рецидива хронического миелолейкоза после алло-ТГСК [9]. Успех этой исследовательской группы положил начало практике инфузии лимфоцитов донора для лечения посттрансплантационных рецидивов гематологических заболеваний. В многочисленных клинических исследованиях,

выполненных за последние 25 лет, было показано, что введение лимфоцитов донора позволяет достигнуть полной ремиссии у значительного количества больных с рецидивом основного заболевания: хронического миелолейкоза (ХМЛ) [10, 11], острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) [12], острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) [11], лимфом [13]. Кроме того, инфузию донорских лимфоцитов можно проводить в профилактических целях: в исследовании Wang и соавт. на большой выборке пациентов ($n = 932$) было показано, что при применении интенсифицированного миелоаблативного режима кондиционирования и профилактической инфузии лимфоцитов донора достигаются наибольшие общая и безрецидивная выживаемости [14].

Основную роль в реализации противоопухолевого ответа среди всех лимфоцитов отводят популяции Т-клеток. Долгое время оставался открытым вопрос об оптимальном количестве Т-клеток, вводимых пациентам: нужно соблюсти баланс между количеством, достаточным для элиминации опухолевых клеток, но не приводящим к развитию РТПХ. Так как специфическим маркером Т-клеток служит антиген CD3, то были разработаны методики по подсчету CD3-положительных клеток с помощью проточной цитометрии. В работе Bag и соавт. [15] больных с рецидивами гематологических заболеваний — ХМЛ, хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), множественной миеломы, ОМЛ, ОЛЛ, миелодиспластического синдрома (МДС) и других — разделили на 3 группы. Больным из группы А CD3⁺ клетки вводили в количестве $< 1 \times 10^7$ на 1 кг массы реципиента (/кг), из группы Б — $1-10 \times 10^7$ /кг, из группы В — $> 10 \times 10^7$ /кг. Риск развития РТПХ в течение 12 месяцев после инфузии лимфоцитов составил 21%, 45% и 55% для групп А, Б и В соответственно. Доза CD3⁺ клеток, превышавшая 10×10^7 /кг, была связана с увеличением риска развития РТПХ после переливания донорских лимфоцитов ($p = 0,03$). Введение средних доз CD3⁺ лимфоцитов ($1-10 \times 10^7$ /кг) снижало вероятность развития рецидива по сравнению с инфузией малых доз Т-клеток ($< 1 \times 10^7$ /кг). С целью профилактики рецидива в работе Wang и соавт. количество использованных в ходе инфузии CD3⁺ лимфоцитов составляло 1×10^8 /кг [16].

При гаплоидентичных и родственных частично совместимых трансплантациях доза CD3⁺ лимфоцитов составляет 10^4-10^5 /кг. При совместимых аллогенных неродственных трансплантациях — 10^5-10^6 /кг.

Определение количества CD3⁺ лимфоцитов донора в лейкоконцентрате, получаемом в результате лейкофереза, используемого для трансфузии пациентам, является необходимой процедурой, так как от количества Т-лимфоцитов в трансплантате зависит результат проводимой

терапии. Подсчет CD3⁺ лимфоцитов осуществляется двухплатформенным методом: с помощью проточного цитофлуориметра определяют долю CD3⁺ клеток от всех лейкоцитов (CD45-положительных клеток), содержащихся в лейкоконцентрате, а количество лейкоцитов определяется с помощью автоматического гематологического анализатора. Итоговая формула, применяемая для расчета количества CD3⁺ клеток на килограмм массы тела пациента, представлена ниже:

Количество CD3⁺ лимфоцитов/кг =

$$= \frac{\text{Доля CD3}^+ \text{ лимфоцитов (\%)} \times \text{Количество ядросодержащих клеток в ЛК} (\times 10^9)}{100\% \times \text{Масса тела пациента (кг)}},$$

где ЛК — лейкоконцентрат.

Количество ядросодержащих клеток определяется так же, как описано в гл. «Методика подсчета CD34-положительных гемопоэтических стволовых клеток в периферической крови и трансплантате».

Процедура пробоподготовки для проведения цитометрического анализа количества CD3⁺ клеток включает в себя следующие этапы:

1. Добавление к анализируемому образцу моноклональных антител¹ и 7-аминоактиномицина D (7-AAD)², с последующей инкубацией в течение 15—20 минут в темноте.
2. Добавление лизирующего раствора на основе хлорида аммония без фиксатора. Инкубация на протяжении 10 минут³ в темноте при комнатной температуре.
3. После лизиса эритроцитов необходимо провести сбор и запись данных на проточном цитофлуориметре. Подготовленный таким путем образец стабилен в течение 1 часа. Хранить образцы до сбора рекомендуется в воде со льдом в темноте.

Последовательность гейтирования при проведении цитометрического анализа представлена на рис. 1.

Последовательность гейтирования:

1. Исключить из анализа дебрис и нелизированные эритроциты на диаграмме линейных шкал бокового (SSC) и прямого (FSC) светорассеяния.
2. Выбрать все жизнеспособные клетки (гейт «Живые клетки»), которые не окрашиваются 7-AAD.
3. Из всех жизнеспособных клеток выбрать CD45-«положительные события» на диаграмме SSC vs CD45 (гейт «Лейкоциты»).

¹ Рекомендуется использовать моноклональные антитела анти-CD3 (клон SK7) и анти-CD45 (клоны 2D1 или J33).

² 7-AAD — это краситель, применяющийся для оценки жизнеспособности клеток. Клетки, окрашивающиеся 7-AAD, являются нежизнеспособными.

³ Согласно рекомендациям производителя раствора.

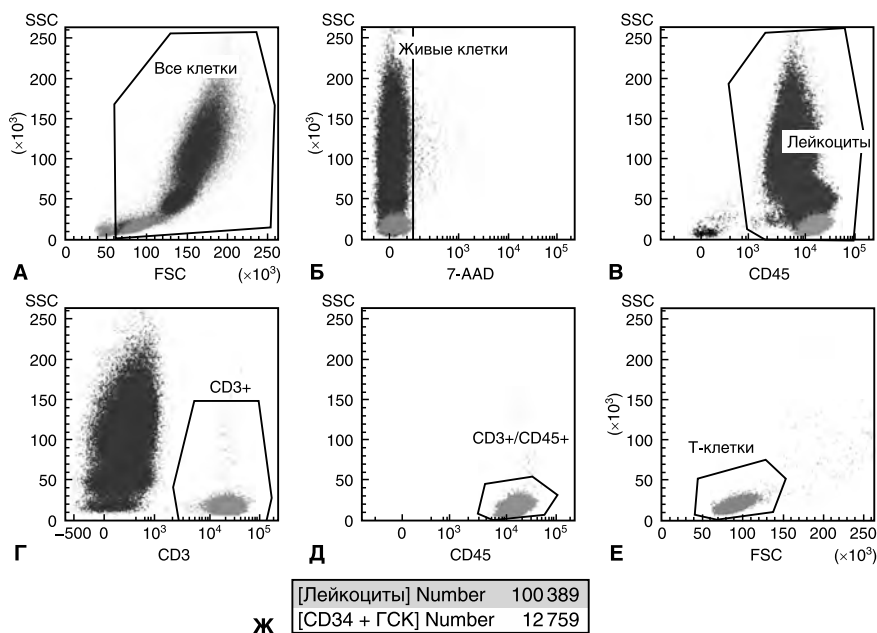


Рисунок 1. Стратегия гейтирования, применяемая для определения количества CD3⁺ ТСК. Объяснение в тексте.

- Из всех CD45⁺ клеток выбрать CD3⁺ (гейт CD3+) на диаграмме SSC vs CD3.
- Провести обратное гейтирование выбранных клеток на диаграмму SSC vs CD45 и выбрать клетки с высокой экспрессией CD45 (гейт CD3⁺/CD45⁺).
- Провести обратное гейтирование выбранных клеток на диаграмму SSC vs FSC и выбрать клетки с низкими параметрами бокового и прямого светорассеяния, соответствующие лимфоцитам (гейт «Т-клетки»).

Доля CD3⁺ клеток равна отношению количества клеток в гейте «Т-клетки» к количеству клеток в гейте «Лейкоциты». Точно рассчитанная доля CD3⁺ лимфоцитов в продукте афереза позволяет определить абсолютное количество заготовленных CD3⁺ клеток на килограмм массы тела реципиента и определить необходимый для трансплантации объем трансплантата.

Литература

1. Pavletic SZ, Fowler DH. Are we making progress in GVHD prophylaxis and treatment? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012(1): 251—264.
2. Jagasia M, Arora M, Flowers ME et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2012; 119(1):296—307.
3. Veltri L, Regier M, Cumpston A et al. Incidence and pattern of graft-versus-host disease in patients undergoing allogeneic transplantation after nonmyeloablative conditioning with total lymphoid irradiation and antithymocyte globulin. *Bone Marrow Res* 2013; 2013:414959.
4. Al-Kadhimi Z, Gul Z, Chen W et al. High incidence of severe acute graft-versus-host disease with tacrolimus and mycophenolate mofetil in a large cohort of related and unrelated allogeneic transplantation patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(7):979—985.
5. Arai S, Arora M, Wang T et al. Increasing incidence of chronic graft-versus-host disease in allogeneic transplantation: a report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(2):266—274.
6. Mattsson J, Ringdén O, Storb R. Graft failure after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(Suppl 1):165—170.
7. Barrett AJ, Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol* 2010; 3(4):429—441.
8. Ossenkoppele GJ, Janssen JJ, van de Loosdrecht AA. Risk factors for relapse after allogeneic transplantation in acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2016; 101(1):20—25.
9. Kolb HJ, Mittermüller J, Clemm C et al. Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood* 1990; 76(12):2462—2465.
10. Dazzi F, Szydlo RM, Cross NC et al. Durability of responses following donor lymphocyte infusions for patients who relapse after allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 96(8): 2712—2716.
11. Shiobara S, Nakao S, Ueda M et al. Donor leukocyte infusion for Japanese patients with relapsed leukemia after allogeneic bone marrow transplantation: lower incidence of acute graft-versus-host disease and improved outcome. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26(7):769—774.
12. Schmid C, Labopin M, Nagler A et al. Donor lymphocyte infusion in the treatment of first hematological relapse after allogeneic stem-cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia: a retrospective risk factors analysis and comparison with other strategies by the EBMT Acute Leukemia Working Party. *J Clin Oncol* 2007; 25(31):4938—4945.
13. Morris E, Thomson K, Craddock C et al. Outcomes after alemtuzumab-containing reduced-intensity allogeneic transplantation regimen for relapsed and refractory non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004; 104(13):3865—3871.

14. Wang Y, Liu QF, Wu DP et al. Impact of prophylactic/preemptive donor lymphocyte infusion and intensified conditioning for relapsed/refractory leukemia: a real-world study. *Sci China Life Sci* 2020; 63(10):1552—1564.
15. Bar M, Sandmaier BM, Inamoto Y et al. Donor lymphocyte infusion for relapsed hematological malignancies after allogeneic hematopoietic cell transplantation: prognostic relevance of the initial CD3+ T cell dose. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19(6):949—957.

Глава 18.

Протокол криоконсервирования гемопозитических стволовых клеток

Криоконсервирование — технологический процесс, включающий в себя добавление в биоматериал криоконсерванта, замораживание и последующее хранение при сверхнизких температурах (от -140 до -196 °C) с сохранением количественных и качественных характеристик клеток после размораживания.

Процедуру криоконсервирования проводят для гемопозитических стволовых клеток (ГСК), срок хранения которых превышает 72 часа с момента афереза. Хранение ГСК до 72 часов возможно при температуре $+4$ — $+6$ °C. Для поддержания оптимальной жизнеспособности клеток рекомендуется проводить криоконсервирование в пределах 48 часов с момента завершения афереза, при этом рекомендованная концентрация ядродержащих клеток в ГСК не должна превышать 2×10^8 /мл, если необходимость хранения превышает 24 часа до криоконсервирования.

Объем лейкоконцентрата, подлежащего криоконсервированию, при необходимости может быть уменьшен путем центрифугирования и последующего фракционирования. Уменьшение объема за счет удаления плазмы позволяет минимизировать количество криоконсерванта и снизить его побочные действия на организм реципиента, сократить время введения реципиенту ГСК, а также минимизировать количество используемых криоконтейнеров.

При этом важно учитывать меняющуюся при фракционировании концентрацию ядросодержащих клеток. Она не должна превышать $4 \times 10^8/\text{мл}$.

Чтобы избежать бактериальной контаминации трансплантата на этапе подготовки к криоконсервированию, все манипуляции (присоединение контейнера для плазмы, отбор пробы для подсчета количества ядросодержащих клеток) стоит проводить с использованием устройства стерильного запаивания ПВХ-трубок. При отсутствии такого устройства, все действия с нарушением герметичности контейнера необходимо проводить в ламинарном шкафу не ниже ПА класса биологической безопасности. Далее контейнер с ГСК необходимо поместить в холодильник с температурным режимом $+4 - +6^\circ\text{C}$ для охлаждения перед криоконсервацией.

Перед криоконсервированием в лейкоконцентрате определяется количество ядросодержащих клеток (TNC — total nucleated cell) и количество CD34+ клеток на 1 кг веса реципиента.

Для определения TNC используется формула:

$$\text{TNC} = \frac{\text{WBC} (10^9/\text{л}) \times \text{Объем лейкоконцентрата (мл)}}{1000},$$

где WBC — количество лейкоцитов.

Для определения WBC используется автоматический гематологический анализатор. Объем лейкоконцентрата допустимо приравнять к его массе (1 мл = 1 г).

Пример:

$$\text{WBC} = 236,3 \times 10^9/\text{л}.$$

$$\text{Объем лейкоконцентрата} = 85 \text{ мл}.$$

$$\text{TNC} = \frac{236,3 \times 10^9/\text{л} \times 85 \text{ мл}}{1000} = 20,08 \times 10^9.$$

Для определения абсолютного количества CD34+ клеток на 1 кг веса реципиента используется формула:

$$\text{CD34+}/\text{кг} = \frac{\text{TNC} (10^9) \times \text{CD34+} (\%) }{\text{Вес реципиента (кг)}}.$$

CD34+ (%) — доля CD34+ клеток от всех CD45+ клеток по данным проточной цитометрии.

Пример:

$$\text{TNC} = 20,08 \times 10^9.$$

$$\text{CD34+} (\%) = 0,98 \% \text{ (при подсчете используется в виде десятичной дроби} = 0,0098).$$

Вес реципиента = 77 кг.

$$\text{CD34+}/\text{кг} = \frac{20,08 \times 10^9 \times 0,0098}{77 \text{ кг}} = 0,00255 \times 10^9 / \text{кг} = 2,55 \times 10^6 / \text{кг}.$$

Добавление криоконсерванта должно происходить в ламинарном шкафу не ниже ПА класса биологической безопасности.

Основным криоконсервантом для защиты клеток от повреждающих эффектов замораживания и низкотемпературного хранения является диметилсульфоксид (ДМСО). Считается, что ДМСО предотвращает повреждающее действие кристаллизации воды. Конечный продукт должен включать 5—10% ДМСО.

Допускается использование ДМСО как единственного криопротектора. При данном способе криоконсервирования ДМСО вводится медленно в предварительно охлажденный лейкоконцентрат, рекомендуется проводить данную процедуру, располагая контейнер на хладагенте. Это обусловлено тем, что добавление ДМСО в контейнер с биоматериалом сопровождается термической реакцией, что может приводить к альтерации клеток. Температура замерзания ДМСО составляет +18,5 °С, что не позволяет решить данную проблему его охлаждением. Преимущество данного метода заключается в наименьшем количестве криоконсерванта в конечном объеме. Для определения объема ДМСО, который необходимо добавить в лейкоконцентрат при данном способе заморозки, можно использовать формулу:

$$\text{Объем ДМСО (мл)} = \frac{\text{Объем лейкоконцентрата (мл)} \times X}{100 - X},$$

где X — целевая концентрация ДМСО (%) (5—10) в конечном контейнере.

Пример:

Объем лейкоконцентрата = 210 мл.

Целевая концентрация ДМСО (%) = 7.

$$\text{Объем ДМСО (мл)} = \frac{210 \text{ мл} \times 7}{100 - 7} = 15,8 \text{ мл}.$$

Также возможно использование ДМСО в комбинации с обладающими внеклеточным механизмом защиты соединениями, например декстраном или гидроксиптилкрахмалом (ГЭК).

Использование данного типа криоконсерванта имеет ряд преимуществ, таких как внутри- и внеклеточный механизм криопротекции, возможность его охлаждения и избежание термической реакции ДМСО при смешивании с лейкоконцентратом, отсутствие необходи-

мости приготовления раствора непосредственно в момент криоконсервирования.

После добавления криоконсерванта проводится его равномерное распределение, из криоконтейнера удаляется воздух и выполняется герметичная запайка магистралей, после чего трансплантат незамедлительно замораживается.

Замораживание ГСК рекомендуется проводить со скоростью 1—2 °С в минуту, для чего могут быть использованы программные замораживатели.

При достижении температуры –80 °С криоконтейнер помещается в бункер с жидким азотом, где при сверхнизкой температуре хранится до момента трансплантации.

Хранение криоконсервированных ГСК прекращается в случае смерти потенциального реципиента или отсутствия медицинских показаний к трансплантации в течение пяти лет с даты афереза.

Транспортировка криоконсервированных ГСК при необходимости осуществляется в сосуде Дьюара с жидким азотом при температуре –140 — –196 °С. Конструкция и емкость данного резервуара должна позволять сохранять требуемую температуру на всем протяжении транспортировки.

Контроль качества ГСК после криоконсервирования проводится методом подсчета абсолютного числа жизнеспособных CD34+ клеток в пробе, взятой из криоконтейнера сразу после размораживания перед трансплантацией. Для этого из криоконтейнера после перемешивания берется образец биоматериала, в котором подсчитывается процент CD34+ клеток, TNC и процент жизнеспособных ядросодержащих клеток (NC жизнеспособные). Пробоподготовка должна исключать этапы, при которых клетки подвергаются осмотическому шоку.

Формула для подсчета жизнеспособных CD34+ клеток:

$$\text{CD34+}/\text{кг}(\text{жизнесп.}) = \frac{\text{TNC пр.} \times \text{NC жизнесп.}(\%) \times \text{CD34+}(\%) \text{ пр.}}{\text{Вес реципиента (кг)}},$$

где пр. — после разморозки.

Пример:

TNC (после разморозки) = $18,65 \times 10^9$.

NC жизнеспособные = 69% (в виде десятичной дроби = 0,69).

CD34+ (%) (после разморозки) = 1,53% (в виде десятичной дроби = 0,0153).

Вес реципиента = 77 кг.

$$\text{CD34+}/\text{кг (жизнесп.)} = \frac{18,65 \times 10^9 \times 0,69 \times 0,0153}{77 \text{ кг}} =$$

$$= 0,00255 \times 10^9/\text{кг} = 2,55 \times 10^6/\text{кг}.$$

Спутники (аликвоты) криоконтейнеров можно использовать только для оценки бактериальной контаминации, так как данные жизнеспособности клеток в них могут значительно отличаться от данных жизнеспособности клеток в криоконтейнере.

При заготовке аллогенного трансплантата замораживаются донорские лимфоциты (CD3+ клетки). В НМИЦ гематологии используются 2 основные схемы:

1. Для заготовки CD3+ клеток от неродственного донора:
 - $1 \times 10^5/\text{кг}$ 6 контейнеров — бустеры иммунной реконструкции;
 - $5 \times 10^5/\text{кг}$ 5 контейнеров — профилактика рецидивов;
 - $1 \times 10^6/\text{кг}$ 6 контейнеров — профилактика/лечение рецидивов;
 - $1 \times 10^7/\text{кг}$ 2 контейнера — профилактика/лечение рецидивов.
2. Для заготовки CD3+ клеток от гаплоидентичного донора:
 - $1 \times 10^4/\text{кг}$ 4 контейнера — бустеры иммунной реконструкции;
 - $1 \times 10^5/\text{кг}$ 3 контейнера — профилактика рецидивов;
 - $1 \times 10^6/\text{кг}$ 5 контейнеров — профилактика/лечение рецидивов;
 - $5 \times 10^6/\text{кг}$ 2 контейнера — профилактика/лечение рецидивов;
 - $1 \times 10^7/\text{кг}$ 2 контейнера — профилактика/лечение рецидивов.

Для определения абсолютного количества CD3+ клеток на 1 кг веса реципиента используется формула:

$$\text{CD3+}/\text{кг} = \frac{\text{TNC} (10^9) \times \text{CD3+} (\%) }{\text{Вес реципиента (кг)}}.$$

CD3+ (%) — доля CD3+ клеток от всех CD45+ клеток по данным точной цитометрии.

Пример:

$$\text{TNC} = 20,08 \times 10^9.$$

$$\text{CD3+} (\%) = 32\% \text{ (при подсчете используется в виде десятичной дроби} = 0,32).$$

$$\text{Вес реципиента} = 77 \text{ кг}.$$

$$\frac{20,08 \times 10^9 \times 0,32}{77 \text{ кг}} = 0,0834 \times 10^9/\text{кг} = 8,34 \times 10^7/\text{кг}.$$

Принципы криоконсервирования CD34+ и CD3+ клеток идентичны. Чаще используется комбинированный криоконсервант, так как объем лейкоконцентрата при минимальных дозировках ($1 \times 10^4/\text{кг}$ — $1 \times 10^5/\text{кг}$) может составлять несколько микролитров, что исключает техническую возможность использовать только ДМСО. В основном для хранения используются криопробирки в диапазоне от 1 до 4,5 мл.

Литература

1. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 24.12.2020 № 44 (ред. от 14.04.2022) «Об утверждении санитарных правил СП 2.1.3678-20 “Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг”» (зарегистрировано в Минюсте России 30.12.2020 № 61953).
2. Wuchter P. Processing, cryopreserving and controlling the quality of HSCs. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N (editors). The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. 7th edition. Cham (CH): Springer, 2019. P. 127—130.
3. Чуйков В. А. Механизм криозащитной эффективности и фармакологические свойства диметилсульфоксида. Криобиология 1989; 1:3—10.
4. Грицаев С. В., Бессмельцев С. С., Пономарев С. А. и др. Метод криоконсервации гемопоэтических стволовых клеток для аутологичной трансплантации. СПб.: ВиТ-принт, 2015. 40 с.

Глава 19.

Трансфузии компонентов донорской крови у больных на различных этапах трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток и аллогенного костного мозга

К трансфузиям компонентов крови у пациентов, которым планируется или уже проведена трансплантация аллогенного костного мозга (КМ) или гемопозитических стволовых клеток (ГСК), требуется особый подход. Трансплантация аллогенного костного мозга (алло-ТКМ) и/или аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК), как правило, сопровождается трансфузионной терапией. Алло-ТКМ и алло-ТГСК предполагает HLA-совместимость донора и реципиента. Однако гистосовместимость не определяет совместимость донора и реципиента по антигенам групп крови. В настоящее время в нормативных правовых документах отсутствуют правила совместимости компонентов донорской крови при трансфузии реципиенту КМ и ГСК, отдельные элементы совместимости донора и реципиента крови по системе АВ0 и резус-принадлежности регламентированы в приказе Минздрава России от 20.10.2020 № 1134н, но без учета факта трансплантации КМ и ГСК и, следовательно, без учета смены группы крови пациента на группу крови донора [1—3] (табл. 1 и 2).

Таблица 1. Совместимость по системе АВ0 при трансфузиях компонентов крови в различные периоды АВ0-несовместимой алло-ТКМ и алло-ТГСК (в порядке предпочтительности)

Группа крови		Период I (до проведения алло-ТКМ и алло-ТГСК)			Период II (с момента проведения алло-ТКМ и алло-ТГСК до полного приживания трансплантата) и III (с момента полного приживания трансплантата)		
Реципиент КМ и ГСК	Донор КМ и ГСК	Эритроциты	Тромбоциты ¹	Плазма, криопреципитат ²	Эритроциты	Тромбоциты ¹	Плазма, криопреципитат ²
0	A	Для группы крови реципиента ³			0	A, AB ⁴ , 0 ⁵	A, AB
0	B	Для группы крови реципиента ³			0	B, AB ⁴ , 0 ⁵	B, AB
0	AB	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
A	AB	Для группы крови реципиента ³			A, 0	AB, 0 ⁵	AB
B	AB	Для группы крови реципиента ³			B, 0	AB, 0 ⁵	AB
A	0	Для группы крови реципиента ³			0	A, AB ⁴ , 0 ⁵	A, AB
B	0	Для группы крови реципиента ³			0	B, AB ⁴ , 0 ⁵	B, AB
AB	0	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
AB	A	Для группы крови реципиента ³			A, 0	AB, 0 ⁵	AB
AB	B	Для группы крови реципиента ³			B, 0	AB, 0 ⁵	AB
A	B	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
B	A	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
A2	0	Для группы крови реципиента ³			0	A, AB ⁴ , 0 ⁵	A, AB
A2	A	Для группы крови реципиента ³			0	A, AB ⁴ , 0 ⁵	A, AB
A2	B	Для группы крови реципиента ³			0	B, AB ⁴ , 0 ⁵	B, AB
A2	AB	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
0	A2	Для группы крови реципиента ³			0	A, AB ⁴ , 0 ⁵	A, AB
AB	A2	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
B	A2	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
A	A2	Для группы крови реципиента ³			0	A, AB ⁴ , 0 ⁵	A, AB
A2B	AB	Для группы крови реципиента ³			0, B	AB, 0 ⁵	AB
A2B	0	Для группы крови реципиента ³			0	B, AB ⁴ , 0 ⁵	AB
A2B	A	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
A2B	B	Для группы крови реципиента ³			B, 0	AB, 0 ⁵	AB
0	A2B	Для группы крови реципиента ³			0	B, AB ⁴ , 0 ⁵	AB

Таблица 1 (окончание). Совместимость по системе АВ0 при трансфузиях компонентов крови в различные периоды АВ0-несовместимой алло-ТКМ и алло-ТГСК (в порядке предпочтительности)

Группа крови		Период I (до проведения алло-ТКМ и алло-ТГСК)			Период II (с момента проведения алло-ТКМ и алло-ТГСК до полного приживления трансплантата) и III (с момента полного приживления трансплантата)		
Реципиент КМ и ГСК	Донор КМ и ГСК	Эритроциты	Тромбоциты ¹	Плазма, криопреципитат ²	Эритроциты	Тромбоциты ¹	Плазма, криопреципитат ²
AB	A2B	Для группы крови реципиента ³			0, B	AB, 0 ⁵	AB
A	A2B	Для группы крови реципиента ³			0	AB, 0 ⁵	AB
B	A2B	Для группы крови реципиента ³			0, B	AB, 0 ⁵	AB

¹ Допускается трансфузия неидентичного по системе АВ0 концентрата тромбоцитов, полученного с использованием добавочного раствора, реципиенту с любой группой крови.

² Допускается трансфузия неидентичного по системе АВ0 криопреципитата реципиенту с любой группой крови.

³ В соответствии с приказом Минздрава России от 20.10.2020 № 1134н.

⁴ Полученные методом афереза.

⁵ Полученные из единицы крови.

Таблица 2. Совместимость при трансфузиях эритроцитсодержащих компонентов крови в различные периоды несовместимой по резус-принадлежности алло-ТКМ и алло-ТГСК (в порядке предпочтительности)

Антигены эритроцитов		Период I (до проведения алло-ТКМ и алло-ТГСК)	Период II (с момента проведения алло-ТКМ и алло-ТГСК до полного приживления трансплантата)	Период III (с момента полного приживления трансплантата)
Реципиент КМ и ГСК	Донор КМ и ГСК			
D	dd	D, dd	dd	dd
dd	D	dd	dd	dd
D ^{weak} /D ^{parcial}	D	dd	dd	dd
D ^{weak} /D ^{parcial}	dd	dd	dd	dd
D	D ^{weak} /D ^{parcial}	D, dd	dd	dd
dd	D ^{weak} /D ^{parcial}	dd	dd	dd
CC	Cc	CC	CC	CC
CC	cc	CC	CC	cc, Cc
Cc	CC	Cc, CC, cc	CC	CC

Таблица 2 (окончание). Совместимость при трансфузиях эритроцитсодержащих компонентов крови в различные периоды несовместимой по резус-принадлежности алло-ТКМ и алло-ТГСК (в порядке предпочтительности)

Антигены эритроцитов		Период I (до проведения алло-ТКМ и алло-ТГСК)	Период II (с момента про- ведения алло-ТКМ и ал- ло-ТГСК до полного при- живления трансплантата)	Период III (с мо- мента полного приживления трансплантата)
Реципиент КМ и ГСК	Донор КМ и ГСК			
Сс	сс	Сс, СС, сс	сс, Сс	сс, Сс
сс	СС	сс, Сс	сс, Сс	СС
сс	Сс	сс, Сс	сс, Сс	Сс, сс
ЕЕ	Ее	ЕЕ, Ее	ЕЕ, Ее	ЕЕ, Ее
ЕЕ	ее	ЕЕ, Ее	ЕЕ, Ее	ее
Ее	ЕЕ	Ее, ЕЕ, ее	ЕЕ, Ее	ЕЕ, Ее
Ее	ее	Ее, ЕЕ, ее	ее	ее
ее	ЕЕ	ее	ее	ЕЕ, Ее
ее	Ее	ее	ее	Ее, ее, ЕЕ

Об иных аспектах клинического использования донорской крови при оказании медицинской помощи по профилю «гематология» см. в гл. «Трансфузии донорской крови и (или) ее компонентов у взрослых пациентов с заболеваниями системы крови».

Литература

1. Приказ Минздрава России от 20.10.2020 № 1134н «Об утверждении порядка медицинского обследования реципиента, проведения проб на индивидуальную совместимость, включая биологическую пробу, при трансфузии донорской крови и (или) ее компонентов».
2. Камельских Д. В., Коломийченко М. Е. Подбор компонентов донорской крови в случае трансплантации аллогенного костного мозга и/или аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Гематология и трансфузиология 2022; 67(S2):112—113.
3. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N (editors). The EBMT Handbook: hematopoietic stem cell transplantation and cellular Therapies. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019. P. 163—169. URL: link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-02278-5.

Инфекционные осложнения после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Глава 20.

Диагностика, лечение и профилактика инфекционных осложнений у пациентов при трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток

Инфекции сохраняют ведущую позицию среди осложнений у пациентов после трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Основными факторами, влияющими на риск возникновения инфекций у этой категории пациентов, являются предтрансплантационное кондиционирование, вызывающее нейтропению, гипогаммаглобулинемию, лимфопению и токсическое повреждение слизистых оболочек, а также возникновение реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), которая требует назначения иммуносупрессивных препаратов, приводит к усугублению и пролонгированию как гуморального, так и клеточного иммунодефицита.

Источником возбудителей инфекций у пациентов при ТГСК может быть как непосредственное окружение пациента — это воздух, вода, еда, — так и организм пациента — колонизация слизистых желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) полирезистентными микроорганизмами, а также ранее перенесенные или латентные инфекции. Входными воротами инфекции являются респираторный тракт, поврежденные слизистые оболочки ЖКТ, поврежденная кожа, центральный венозный доступ. При проведении ТГСК требуются особые условия пребывания пациентов в палатах с очищенным воздухом, использование бутилиро-

ванной воды, термически обработанная пища, а также уход высококвалифицированного медицинского персонала.

Частота, этиология и факторы риска развития инфекционных осложнений

Риск развития инфекционных осложнений и их этиология изменяются в процессе проведения алло-ТГСК вследствие изменения ведущих факторов, приводящих к развитию инфекции. Для алло-ТГСК была предложена модель развития инфекционных осложнений в зависимости от фазы посттрансплантационного периода — это условные периоды, которые характеризуются различными инфекционными осложнениями. Принято выделять три фазы иммунной реконституции с различными инфекционными осложнениями, которые включают раннюю фазу до приживления трансплантата, раннюю фазу после приживления трансплантата и позднюю фазу (рис. 1).

Фаза I — ранняя фаза до приживления трансплантата — это первые 30 дней после инфузии гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Основными факторами риска возникновения инфекций в эту фазу являются нейтропения 4-й степени (количество нейтрофилов $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$), повреждение слизистых оболочек ЖКТ, наличие постоянного центрального венозного катетера. В этот период в этиологии инфекционных осложнений бактерии преобладают над грибами и вирусами. Среди вирусных возбудителей инфекций наблюдается преимущественно реактивация вируса простого герпеса. Среди инфекционных осложнений после алло-ТГСК основную долю составляют инфекции кровотока и пневмонии. Инфекции ЖКТ и мочевыводящих путей представлены реже.

По результатам исследования, проведенного в нашем центре, кумулятивная частота инфекций кровотока в этот период у пациентов после первой алло-ТГСК составила 29,9%, после второй алло-ТГСК — 35,1% [1] (табл. 1). Вероятность развития инфекций кровотока до приживления оказалась максимальной при алло-ТГСК от неродственного частично совместимого донора (53,3%) по причине значимо более частой констатации несостоятельности трансплантата и удлинённой нейтропении, минимальной — при алло-ТГСК от родственного HLA-идентичного донора (19,5%; $p = 0,004$), сопоставимой при алло-ТГСК от неродственного HLA-идентичного донора (26,2%) и гаплоидентичного донора (30,2%). В этиологии инфекций кровотока этого периода грамотрицательные бактерии составили 52,2%. Основными возбудителями сепсиса были *Escherichia coli*, коагулазонегативные стафило-

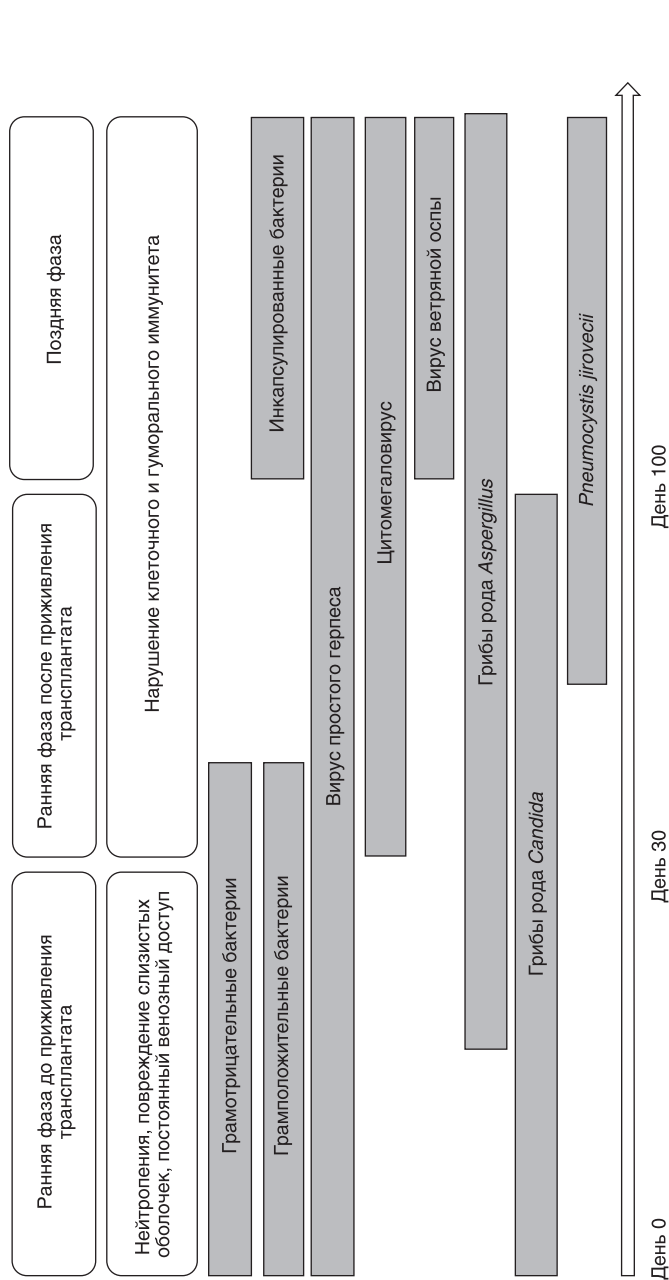


Рисунок 1. Основные возбудители инфекционных осложнений в разные фазы иммунной реконституции после алло-ТГСК.

кокки, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, стрептококки группы *viridans*. После повторных алло-ТГСК по сравнению с первыми алло-ТГСК наблюдалась более высокая частота выявления грамотрицательных бактерий, устойчивых к фторхинолонам (57,9% против 100%; $p = 0,038$) и карбапенемам (42,8% против 13,6%; $p = 0,048$).

Таблица 1. Этиология возбудителей инфекций кровотока после первых и повторных алло-ТГСК до приживления трансплантата (НМИЦ гематологии, 284 пациента после первых и 37 после повторных алло-ТГСК, 2018—2021 гг.) [1]

Микроорганизм	Пациенты		
	Первые алло-ТГСК (n = 113), n (%)	Повторные алло-ТГСК (n = 14), n (%)	Всего (n = 127), n (%)
Грамотрицательные бактерии	59 (52,2)	7 (50,0)	66 (52,0)
Грамположительные бактерии	54 (47,8)	7 (50,0)	61 (48,0)
Распределение микроорганизмов			
<i>Escherichia coli</i> , из них <i>Escherichia coli</i> с продукцией БЛРС	26 (23,0) 13 (50,0)	3 (21,4) 1 (33,3)	29 (45,3) 14 (48,3)
Коагулазонегативные стафилококки	19 (16,8)	2 (14,2)	21 (34,4)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , из них <i>Klebsiella pneumoniae</i> с продукцией БЛРС <i>Klebsiella pneumoniae</i> , устойчивые к карбапенемам	15 (13,2) 4 (26,7) 8 (44,4)	3 (21,4) 0 3 (100,0)	18 (14,2) 4 (22,2) 11 (61,1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	14 (12,3)	0	14 (22,9)
Стрептококки группы <i>viridans</i>	13 (11,5)	2 (14,2)	15 (11,8)
<i>Enterobacter</i> spp. ¹	8 (7,1)	0	8 (6,2)
<i>Enterococcus</i> spp. ²	5 (4,4)	3 (21,4)	8 (6,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 (4,4)	0	5 (3,9)
Другие <i>Klebsiella</i> spp. ³	3 (2,7)	0	3 (2,4)
Другие грамположительные ⁴	3 (2,7)	0	3 (4,9)
Другие грамотрицательные ⁵	2 (1,8)	1 (7,4)	3 (2,4)
БЛРС — бета-лактамазы расширенного спектра действия; <i>E. coli</i> — <i>Escherichia coli</i> ; <i>K. pneumoniae</i> — <i>Klebsiella pneumoniae</i> .			
¹ <i>Enterobacter</i> spp. — <i>E. cloacae</i> (n = 6), <i>E. aerogenes</i> (n = 2).			
² <i>Enterococcus</i> spp. — <i>E. faecium</i> (n = 6), <i>E. faecalis</i> (n = 2).			
³ <i>Klebsiella</i> spp. — <i>K. oxytoca</i> (n = 2), <i>K. variicola</i> (n = 1).			
⁴ <i>Bacillus cereus</i> (n = 1); <i>Corynebacterium striatum</i> (n = 2).			
⁵ <i>Moraxella catarrhalis</i> (n = 1), <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> (n = 1), <i>Acinetobacter baumannii</i> (n = 1).			

Следует отметить, что у реципиентов после ТГСК, как и у пациентов с другими терапевтическими воздействиями в период нейтропении, основными механизмами устойчивости у энтеробактерий являются продукция БЛРС (27—50%) и карбапенемаз, преимущественно у *Klebsiella pneumoniae* (30—44%). Устойчивость к карбапенемам среди *Pseudomonas aeruginosa* составляет к карбапенемам 40—50%, *Acinetobacter baumannii* — 65—70%. Штаммы *Pseudomonas aeruginosa* сохраняют чувствительность лишь к колистину. Среди грамположительных бактерий отмечена устойчивость *Enterococcus faecium* к ванкомицину (до 59%) [2].

Помимо основных факторов, способствующих развитию инфекционных осложнений после алло-ТГСК, существуют также косвенные факторы риска. К ним относят тип предтрансплантационного кондиционирования (более интенсивные режимы сопряжены с более выраженным повреждением слизистых оболочек и пролонгированным периодом нейтропении), источник трансплантата (использование ГСК периферической крови приводит к более быстрому восстановлению показателей крови, но сопряжено с более высоким риском развития РТПХ), тип донора (алло-ТГСК от частично совместимых и неродственных доноров связана с замедленным восстановлением В- и Т-клеточного иммунитета), вариант режима профилактики РТПХ (антитомоцитарный иммуноглобулин, алемтузумаб, посттрансплантационный циклофосфамид), манипулирование трансплантатом (*ex vivo* Т-клеточная деплеция и CD34+ селекция сопровождаются более высоким риском несостоятельности трансплантата).

Грибы *Candida* spp. крайне редко выделяют из гемокультуры больных после алло-ТГСК ввиду активной противогрибковой профилактики в этот период. Среди плесневых грибов преобладают *Aspergillus* spp., но развитие инвазивного аспергиллеза в раннюю фазу регистрируется также крайне редко, и их возникновение в этот период как «инфекции прорыва» происходит, как правило, при длительной нейтропении (от 10 дней и более) или пребывании больного в палатах без фильтров высокой степени очистки воздуха (НЕРА-фильтров).

Фаза II — ранняя фаза после приживления трансплантата — включает период от приживления трансплантата до 100 дней после ТГСК (30—100 дней после ТГСК). Основной фактор развития инфекционных осложнений в этот период — это развитие острой РТПХ. Частота и характер инфекций определяется степенью острой РТПХ, а также препаратами для лечения. Среди возбудителей в этот период преобладают герпесвирусы, особенно цитомегаловирус (ЦМВ), высока вероятность развития пневмоцистной пневмонии, а также инвазивного аспергиллеза, особенно у больных с неконтролируемой острой РТПХ,

сохраняется опасность возникновения бактериального сепсиса, а также детекции других вирусов (аденовирусы, ВК-вирусы, респираторные вирусы).

Фаза III — поздняя фаза — это период после 100 дней с момента констатации приживления трансплантата. Основным фактором риска возникновения инфекционных осложнений на этом этапе является хроническая РТПХ и необходимость применения иммуносупрессивных препаратов для ее лечения, а также неполное восстановление клеточного и гуморального иммунитета. Наиболее характерные инфекционные осложнения этого периода представлены инфекциями, вызванными инкапсулированными бактериями (например, *Streptococcus pneumoniae*), ЦМВ, мицелиальными грибами (в основном *Aspergillus* spp), а также посттрансплантационными лимфопролиферативными заболеваниями, ассоциированными с вирусом Эпштейна—Барр [3, 4]. Необходимо отметить, что риск развития инфекционных осложнений после алло-ТГСК у многих больных сохраняется длительное время, особенно в группе пациентов с хронической РТПХ. Наиболее высокая частота инфекционных осложнений, включая инвазивные микозы, наблюдается у больных, у которых отмечался переход острой РТПХ в хроническую.

Клинические проявления инфекций

Клинические проявления инфекций у пациентов после алло-ТГСК неспецифичные, обусловлены органом поражения. После алло-ТГСК существует вероятность вовлечения в инфекционный процесс любого органа, но чаще происходит поражение легких, слизистых оболочек ЖКТ, кожи и мягких тканей промежности, развитие ангиогенного сепсиса.

В течение инфекционного процесса определяются те же особенности, как для больных с глубокой нейтропенией, — это скудность клинических проявлений, наличие одновременно двух и более очагов инфекции, нередко обусловленных разными возбудителями, появление новых очагов инфекции другой этиологии и локализации, особенно при длительности нейтропении от 10 и более дней.

Микробиологические и инструментальные исследования перед алло-ТГСК и во время алло-ТГСК

До проведения алло-ТГСК необходимо провести ряд исследований, таких как:

- компьютерная томография (КТ) легких;
- магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга;
- МРТ или КТ с контрастированием органов брюшной полости;
- исследование ректального мазка (колонизация слизистой оболочки кишечника полирезистентными микроорганизмами);
- определение иммуноглобулинов М и G герпесвирусов в крови;
- мазок со слизистой носовых ходов (колонизация *Staphylococcus aureus*).

Проводимые исследования направлены на выявление очагов инфекции, являются ориентиром для выбора препаратов для профилактики инфекции.

Обязательным после алло-ТГСК является мониторинг исследований, которые представлены в табл. 2.

Таблица 2. Мониторинг микробиологических и вирусологических исследований

Исследования	Частота исследований, показания
Ректальные мазки	1 раз в 7 дней • с 1-го дня кондиционирования и до восстановления гранулоцитопоза (количество нейтрофилов $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$); • при РТПХ кишечника или печени. Обязательным является: • идентификация грамотрицательных бактерий; • энтеробактерии — определение продукции БЛРС и карбапенемаз; • грамотрицательные неферментирующие бактерии — определение чувствительности к антибиотикам; • <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, устойчивые к карбапенемам, — определение карбапенемаз; • <i>Candida</i> spp. — определение вида, чувствительность не исследуют
Определение ДНК герпесвирусов в крови	1—2 раза в неделю в период нейтропении и при развитии РТПХ

При появлении инфекции следует провести диагностические исследования. Мониторинг антигена *Aspergillus* (галактоманнан) в крови проводят при лихорадке в период нейтропении.

Диагностика инфекционных осложнений

Диагностика инфекционных осложнений начинается с физического осмотра пациента, сбора анамнеза и жалоб. При подозрении на инфекцию образцы биологического материала должны быть взяты незамедлительно. В табл. 3 представлены исследования в зависимости от инфекционных параметров.

Таблица 3. Показания к проведению диагностических исследований и их спектр у пациентов с инфекциями при алло-ТГСК

Показания	Исследование
Температура $\geq 38^{\circ}\text{C}$, впервые возникшая	Взятие крови в 2—4 флакона для гемокультуры (из вены и центрального венозного катетера или только из вены) в объеме 20—40 мл. В каждый флакон вводят (от взрослых пациентов) 10 мл крови. Выделение коагулазонегативных стафилококков и <i>Corynebacterium</i> spp. необходимо подтверждать двумя положительными исследованиями гемокультуры
Температура $\geq 38^{\circ}\text{C}$ в течение ≥ 5 дней и лейкопения	Повторное взятие крови для гемокультуры 1 раз в неделю. Микробиологическое исследование мочи. Определение ДНК герпесвирусов в крови. Ректальный мазок. КТ высокого разрешения легких
Температура $\geq 38^{\circ}\text{C}$, длительная, сохраняется после «выхода» из нейтропении	УЗИ брюшной полости. КТ высокого разрешения или МРТ органов брюшной полости при неинформативном УЗИ. Определение антигена <i>Candida</i> spp. (маннан) и антител <i>Candida</i> spp. (антиманнан) в крови, особенно у больных с очагами в печени/селезенке
Катетер-ассоциированная инфекция	Взятие одновременно крови из вены и из ЦВК для микробиологического исследования. Положительная гемокультура из ЦВК получена раньше на 2 часа и более, чем из вены, — удаление ЦВК ввиду высокой вероятности его инфицирования
Ожидаемая нейтропения (лейкопения) > 10 дней и лихорадка	Исследование крови на антиген <i>Aspergillus</i> spp. 2 раза в неделю, если не проводится профилактика антимикотиками, активными против плесневых грибов
Множественные очаги в печени и/или селезенке	Исследование антигена <i>Candida</i> spp. (маннан) и антител <i>Candida</i> spp. (антиманнан) в сыворотке крови. Биопсия образования (полное исследование на бактерии и грибы)
Мукозит	Мазок со слизистой ротоглотки (микробиологическое исследование). Определение ДНК вируса простого герпеса и ЦМВ
Эзофагит	Эзофагоскопия (при количестве тромбоцитов $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$). Исследование со слизистой оболочки — соскоб (браш-метод) или биопсия. Микробиологическое и вирусологическое исследование ДНК вируса простого герпеса и ЦМВ — соскоб со слизистой
Некроз слизистой оболочки носового хода	Мазок или биопсия слизистой оболочки носа
Гайморит	Исследование содержимого околоносовой пазухи, полученного при пункции
Симптомы инфекции мочевыводящих путей. Лейкоцитурия	Микробиологическое исследование мочи

Таблица 3 (продолжение). Показания к проведению диагностических исследований и их спектр у пациентов с инфекциями при алло-ТГСК

Показания	Исследование
Пневмония	КТ легких. БАЛ в течение 24—48 часов после КТ легких при наличии изменений (желательно проводить во всех случаях по причине высокой частоты сочетанной инфекции, особенно в период вспышки вирусных инфекций). Полное исследование жидкости БАЛ (микроскопия, микробиологическое исследование на бактерии и грибы, определение галактоманнана, флюоресцентная микроскопия микелиальных грибов, определение ДНК вирусов, <i>Pneumocystis jirovecii</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>). Определение респираторных вирусов методом ПЦР. Исследование сыворотки крови (при нейтропении) на антиген <i>Aspergillus</i> spp. При наличии фокусов, консолидации в легочной ткани — определение антигена <i>Legionella pneumophila</i> в моче
Симптомы менингита. «Мозговая» симптоматика на фоне лихорадки и нейтропении	Люмбальная пункция. Полное микробиологическое и вирусологическое исследование СМЖ. Определение антигена <i>Cryptococcus</i> spp. (глюкуроноксилманнан). Определение антигена <i>Streptococcus pneumoniae</i> в СМЖ или в моче у больных с признаками менингита, возникшего амбулаторно. Определение ДНК герпесвирусов
Обнаружение очага (очагов) в головном мозге	Люмбальная пункция. Полное микробиологическое и вирусологическое исследование СМЖ. Определение антигена <i>Cryptococcus</i> spp. (глюкуроноксилманнан). Определение антигена <i>Aspergillus</i> spp. (галактоманнан) у больных с инвазивным аспергиллезом (диссеминация). Определение ДНК <i>Toxoplasma gondii</i> . Определение ДНК герпесвирусов
Диарея	Исследование кала на токсин <i>Clostridium difficile</i> . Определение ДНК ЦМВ и герпесвируса человека 6-го типа
Парапроктит. Трещина в области прямой кишки	Мазок со слизистой оболочки прямой кишки
Образования (инфильтраты) на коже	Биопсия. Микробиологическое и гистологическое исследование биоптата
Эхокардиографии (ЭхоКГ), включая чреспищеводную ЭхоКГ	Микробиологически подтвержденная инфекция, вызванная <i>Staphylococcus aureus</i> . Длительная (10—14 дней и более) персистирующая лихорадка, особенно у больных без лейкопении. Чреспищеводную ЭхоКГ назначают при лихорадке и отсутствии изменений при трансторакальной ЭхоКГ

Таблица 3 (окончание). Показания к проведению диагностических исследований и их спектр у пациентов с инфекциями при алло-ТГСК

Показания	Исследование
УЗИ и/или радиологическое исследование (КТ высокого разрешения, МРТ) органов брюшной полости	Сохраняющаяся лихорадка (колебания температуры в течение суток от 37 до 39 °С), особенно в отсутствие лейкопении (диагностика гепатолиенального кандидоза). Исследование у больных с диагностированным аспергиллезом легких или мукормикозом любой локализации (исключить диссеминацию). Контроль выявленных изменений. При диагностике гепатолиенального кандидоза контрольное исследование проводят не ранее чем через 1 месяц терапии системными противогрибковыми препаратами вне лейкопении
КТ высокого разрешения или МРТ головного мозга	Наличие симптомов со стороны ЦНС. Диагностика инвазивного аспергиллеза легких / околоносовых пазух или мукормикоза любой локализации (исключить диссеминацию)
БАЛ — бронхоальвеолярный лаваж; ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота; ПЦР — полимеразная цепная реакция; СМЖ — спинномозговая жидкость; УЗИ — ультразвуковое исследование; ЦВК — центральный венозный катетер; ЦНС — центральная нервная система.	

Антибактериальная терапия: показания к назначению антибиотиков

При лихорадке (температура > 38 °С) в период нейтропении, а также больным с РТПХ (независимо от количества нейтрофилов), особенно при вовлечении кишечника или печени, назначение антибиотиков проводят эмпирически незамедлительно и в качестве препаратов 1-й линии используют «защищенные» β-лактамы с активностью в отношении грамотрицательных бактерий, включая *Pseudomonas aeruginosa* [5]. Исключено в этих случаях назначение цефалоспоринов 3—4-го поколений без ингибиторов β-лактамаз, таких как цефтазидим или цефепим.

Антибиотики первой линии

- Пиперациллин/тазобактам, 4,5 г 3 раза в сутки.
- Цефепим/сульбактам, 4 г 2 раза в сутки.
- Цефоперазон/сульбактам, 4 г 2 раза в сутки (клинически и микробиологически менее активен).

Режим деэскалации

Больным с тяжелым инфекционным процессом исходно следует применять режим деэскалации при назначении антибиотиков (температура $> 38^{\circ}\text{C}$) [5].

Показания к режиму деэскалации

- Сепсис (лихорадка, озноб, склонность к артериальной гипотензии, положительный тест на прокальцитонин).
- Пневмония с дыхательной недостаточностью при впервые возникшей фебрильной нейтропении.
- В стационарах с высокой частотой выделения полирезистентных грамотрицательных бактерий из гемокультуры и регистрации летальных исходов в течение первых 7 дней назначения защищенных цефалоспоринов или пиперациллина/тазобактама.
- Больным с РТПХ кишечника или печени, независимо от количества лейкоцитов, при колонизации слизистой кишечника полирезистентными грамотрицательными бактериями.

В режиме деэскалации выбор антибиотиков основан на чувствительности грамотрицательных полирезистентных бактерий, выделенных из ректальных мазков.

Варианты антибиотиков 1-й линии в режиме деэскалации

- Антипсевдомонадный карбапенем (имипенем/циластатин, или меропенем, или дорипенем, или биापенем) в стандартных дозах.
- Антипсевдомонадный карбапенем + полимиксин/колистин или амикацин — при колонизации Enterobacterales с продукцией карбапенемазы или полирезистентными *Pseudomonas aeruginosa* или *Acinetobacter baumannii*.
- Цефтазидим/авибактам $\pm$ азтреонам — в отдельных тяжелых случаях.

При стабилизации клинического состояния больного в условиях отсутствия микробиологического подтверждения инфекции из клинически значимых образцов следует редуцировать противомикробную терапию, отменив один антибиотик (колистин/полимиксин либо амикацин), или провести замену на β -лактамы с ингибиторами β -лактамазы (цефепим/сульбактам или пиперациллин/тазобактам).

Необходимо отметить, что факт колонизации слизистой оболочки кишечника грамотрицательными бактериями, включая Enterobacterales с продукцией карбапенемазы, полирезистентными *Pseudomonas aeruginosa* или *Acinetobacter baumannii* в период нейтропении без лихорадки не является основанием для назначения антибиотиков. Внимание на колонизацию следует обращать только при развитии тяжелой инфекции.

Также следует отметить, что колонизация слизистой кишечника ванкомициноустойчивыми энтерококками, а также метициллино-

устойчивым *Staphylococcus aureus* не рассматривается как показание к назначению антибиотиков с грамположительной активностью ввиду крайне низкой частоты транслокации этих микроорганизмов со слизистой. В отношении этих бактерий антибиотики следует назначать при микробиологически или клинически подтвержденной инфекции (например, инфекция кожи и мягких тканей).

Примечание. Следует помнить, что полирезистентная грамотрицательная инфекция возникает преимущественно у больных, имеющих колонизацию полирезистентными грамотрицательными бактериями слизистой оболочки, но в то же время это происходит не более чем у 30% больных, а у остальных больных причина инфекции может быть иная. Известно, что использование карбапенемов ассоциировано с развитием инфекций, вызванных грамотрицательными полирезистентными бактериями, и необоснованное назначение карбапенемов приводит к еще большему увеличению частоты этих инфекций. Нами было доказано, что колонизация кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС определяется у 80% больных острыми миелоидными лейкозами уже в течение первых 100 дней их лечения в стационаре [6]. В этой связи наиболее значимым в выборе деэскалационного режима является клинически тяжелый инициальный инфекционный процесс и присутствие колонизации слизистой оболочки кишечника грамотрицательными бактериями, особенно в сочетании с диареей или РТПХ, которые приводят к более высокой частоте летальных исходов — это колонизация Enterobacterales с продукцией карбапенемаз или полирезистентными *Pseudomonas aeruginosa* или *Acinetobacter baumannii*.

Модификация антимикробной терапии

Модификацию антимикробной терапии проводят на основании:

- 1) микробиологических результатов из клинически значимых образцов (гемокультура, исследование жидкости БАЛ);
- 2) клинических проявление инфекций (например, наличие периаанальной инфекции);
- 3) результатов колонизации слизистой оболочки кишечника полирезистентными грамотрицательными бактериями при условии неинформативности исследований из клинически значимых образцов.

Модификация антимикробной терапии может быть проведена через 4–6 часов (при выраженном ухудшении клинического состояния) или через 4–5 суток (при стабильном соматическом состоянии больного). Во всех случаях необходимо проводить дополнительные микробиологические и инструментальные исследования.

При неэффективности карбапенемов и сохранении нейтропении добавляют противогрибковые препараты, даже при отсутствии выделения грибов из клинически значимых образцов.

Эмпирическое назначение системных противогрибковых препаратов проводят при нейтропении — на 4—7-й день персистирующей лихорадки или при повторном подъеме температуры на фоне адекватной терапии антибиотиками широкого спектра действия при отсутствии других клинических симптомов, а также радиологических и лабораторных данных за иную инфекцию или другой инвазивный микоз. Препараты выбора — эхинокандин (каспофунгин, микафунгин, анидулафунгин).

Показания к превентивному назначению противогрибковых препаратов — наличие лихорадки и пневмонии, которая на фоне применения адекватных антибиотиков увеличивается в объеме, либо появляются новые очаги в легочной ткани, а исследования БАЛ оказываются неинформативны у больных с длительной нейтропенией (10 дней и более) или неконтролируемой РТПХ. В этих случаях нельзя исключить наличие инвазивного аспергиллеза, и препаратами выбора являются антимикотики, используемые для лечения инвазивного аспергиллеза — это исавуконазол или вориконазол, назначаемые в первые дни лечения внутривенно.

Инвазивные микозы

У реципиентов алло-ТГСК преобладают инвазивные микозы, вызванные плесневыми грибами, и из них ведущую роль (70—80%) занимает инвазивный аспергиллез. Частота инвазивных микозов у реципиентов алло-ТГСК составляет около 10%, несколько выше, если донор ГСК — неродственный частично совместимый или гаплоидентичный.

Возникают инвазивные микозы во время интенсивной иммуносупрессии РТПХ, как правило, высокими дозами глюкокортикоидов, а в период нейтропении в основном у пациентов с несостоятельностью трансплантата. У пациентов с РТПХ частота инвазивных микозов существенно выше, если острая РТПХ переходит в хроническую и, особенно, если при этом донор ГСК был гаплоидентичный. Присоединение ЦМВ-инфекции является дополнительным фактором в развитии инвазивного аспергиллеза в основном по причине удлинения нейтропении. Крайне важным является проведение адекватной терапии РТПХ параллельно с лечением инвазивного микоза. При отсутствии контроля над РТПХ, как правило, не удастся справиться с инвазивным микозом.

Основной фактор риска в развитии мукормикоза — это длительная (более 20 дней) нейтропения. У части больных может быть сочетание инвазивного аспергиллеза легких с мукормикозом сразу на этапе диа-

гностики инфекции, но, как правило, мукомикоз развивается позднее, уже на фоне терапии инвазивного аспергиллеза и чаще при использовании вориконазола, который не активен в отношении грибов порядка *Mucorales*. В основном это возникает у пациентов с несостоятельностью трансплантата. Из клинических проявлений инфекции преобладает поражение легочной ткани.

Инвазивный микоз может развиваться на фоне профилактики антимикотиками даже с активностью против плесневых грибов и расценивается как «инфекция прорыва». Его частота при использовании противогрибковой профилактики флуконазолом составляет 2,4—25%, вориконазолом — 0—7,3%, позаконазолом — 0—5,3%, изавуконазолом — 2,9—8,3%, эхинокандином — 1,6—7,6%, липосомальной формой амфотерицина В — 5,0—12,8% [7].

Спектр возбудителей инвазивного аспергиллеза и его диагностика у больных после алло-ТГСК сопоставимы с больными гемобластозами и депрессией кроветворения. К особенностям у пациентов после алло-ТГСК следует отнести:

- низкую частоту детекции положительных значений индекса оптической плотности антигена *Aspergillus* spp. (галактоманнан) в крови, поскольку больным проводится профилактика антимикотиками с активностью против плесневых грибов;
- нетипичные для инвазивного аспергиллеза легких изменения в легочной ткани ввиду его развития без нейтропении (в период РТПХ) и наличия сопутствующей патологии по причине как другой инфекции (например, ЦМВ), так и РТПХ легких или токсического лекарственного воздействия;
- скудность и нетипичность симптомов инфекции у больных с РТПХ без нейтропении, наличие нормальной температуры, при сочетании с РТПХ легких ведущим проявлением может быть одышка;
- необходимость проведения бронхоскопии и БАЛ при наличии радиологических изменений в легких, даже невыраженных, и появлении каких-либо респираторных симптомов.

Лечение инвазивного аспергиллеза

Препараты выбора в лечении инвазивного аспергиллеза — изавуконазол или вориконазол, если инвазивный аспергиллез развился вне профилактики азолами (позаконазол, или вориконазол, или изавуконазол) [8, 9].

Требования к применению изавуконазола и вориконазола:

- обязательно использование нагрузочной дозы;
- начало терапии строго внутривенной формой;

- длительность применения внутривенной формы не менее 3 дней, но, как правило, 7 дней и более;
- переход на пероральную форму препарата при улучшении;
- при нетяжелом течении допустима начальная терапия изавуконазолом в таблетках с использованием нагрузочной дозы.

Изавуконазол в отличие от вориконазола проявляет активность не только против *Aspergillus* spp, но и против грибов порядка *Mucorales*, а также имеет достоверно более низкую токсичность, является слабым ингибитором системы цитохрома P450, проявляет меньше лекарственных взаимодействий, не удлиняет интервал QT в отличие от всех азолов.

У пациентов с инвазивным аспергиллезом легких при алло-ТГСК предпочтительно назначение изавуконазола перед вориконазолом при наличии следующих факторов:

- сочетание инвазивного аспергиллеза с мукормикозом (микологически подтвержденным или предполагаемым);
- наличие почечной/печеночной недостаточности;
- высокая вероятность лекарственных взаимодействий;
- удлинение интервала QT;
- прогнозируемая длительная нейтропения (высокий риск мукормикоза — «инфекции прорыва»).

Препараты выбора при развитии инвазивного аспергиллеза во время профилактики позаконазолом, или вориконазолом, или изавуконазолом:

- липосомальный амфотерицин В, 3 мг/кг в сутки внутривенно 1 раз в сутки;
- липидный комплекс амфотерицина В, 5 мг/кг внутривенно 1 раз в сутки.

Следует помнить, что патогенез развития грибковой и бактериальной инфекции различается. Для *Aspergillus* spp. характерным является инвазивный рост с окклюзией кровеносного сосуда, приводящей к некрозу легочной ткани и кровоизлиянию по периферии. По этой причине даже при ранней диагностике инвазивного аспергиллеза в период нейтропении происходит увеличение объема поражения легочной ткани. Экспертами в 2022 г. были определены показания к модификации противогрибковой терапии [10]. Отмечено, что исходно назначенные антимикотики следует применять не менее 8 дней (достижение терапевтической концентрации). Повышение индекса оптической плотности галактоманнана или радиологическое увеличение размеров очагов не следует рассматривать как причину к изменению лечения до 15 дней.

Изменение исходной терапии инвазивного аспергиллеза

Показания к изменению терапии инвазивного аспергиллеза [10]:

- В любое время — при выделении гриба, устойчивого к препарату лечения.
- В течение 8—14 дней:
 - ▲ в случае сохранения положительных значений индекса оптической плотности галактотоманнана крови в течение 7 дней (в течение недели проводят 2—3 исследования);
 - ▲ в случае обнаружения положительного индекса оптической плотности галактотоманнана в БАЛ при его отрицательных значениях в предыдущем БАЛ;
 - ▲ при клиническом ухудшении в отсутствие другой причины;
 - ▲ при появлении новой локализации инфекции, выявляемой клинически или радиологически; важно проводить диагностический поиск при сохранении симптомов инфекционного процесса.
- Через 15 дней и более применения антимикотиков:
 - ▲ при любом из ранее представленных признаков;
 - ▲ при увеличении объема изменений в легких на КТ на 25% и более от исходных.

Лечение мукормикоза

Препараты выбора в лечении мукормикоза [11]:

- липосомальный амфотерицин В, 5 мг/кг внутривенно 1 раз в сутки;
- липидный комплекс амфотерицина В, 5 мг/кг внутривенно 1 раз в сутки;
- изавуконазол, по 200 мг каждые 8 часов в течение 2 дней (6 доз), далее по 200 мг 1 раз в сутки внутривенно или внутрь.

Назначение обычного амфотерицина В (1—1,5 мг/кг внутривенно 1 раз в сутки) возможно только в том случае, если в стационаре отсутствуют липидные формы амфотерицина В.

Использовать сочетание антимикотиков в качестве терапии 1-й линии не рекомендуется.

В случае диссеминации *Mucorales* в головной мозг препаратом выбора является липосомальный амфотерицин, доза может быть увеличена до 10 мг/кг в сутки.

Основные принципы лечения инвазивного аспергиллеза и мукормикоза

- Немедленное назначение антимикотика.
- Серия КТ:
 - ▲ при отсутствии эффекта — через 1 неделю;

- ▲ при эффективности лечения — через 2 недели;
- ▲ в процессе лечения (при стабилизации) — каждые 2—3 недели;
- ▲ перед курсом химиотерапии.
- При диагностике инфекции и обязательно при длительной сохраняющейся лихорадке ($\geq 38^\circ\text{C}$ в течение 10—14 дней) на фоне адекватной противогрибковой терапии — исключить очаги диссеминации:
 - ▲ КТ или МРТ
 - головного мозга;
 - паренхиматозных органов (печень, селезенка, почки).
- Длительность лечения: инвазивного аспергиллеза — не менее 6 недель, мукормикоза — более продолжительное время.
- Вторичная противогрибковая профилактика при последующей алло-ТГСК или РТПХ.

Инвазивный кандидоз

Относится к редким осложнениям у реципиентов алло-ТГСК. Факторы риска, диагностика, лечение идентичны другим категориям больных.

Профилактика инвазивных микозов

Цель профилактического применения противогрибковых препаратов — предупреждение развития инвазивных микозов [8, 9]. Различают первичную и вторичную профилактику.

Первичная противогрибковая профилактика показана:

- реципиентам алло-ТГСК в период гранулоцитопении;
- реципиентам алло-ТГСК с РТПХ при назначении глюкокортикоидов в дозе 1 мг/кг и более.

Первичная противогрибковая профилактика

У реципиентов алло-ТГСК в период гранулоцитопении и пребывания в палате с НЕРА-фильтрами препаратом выбора для профилактики является:

- флуконазол, 400 мг в сутки внутривенно или внутрь.

Альтернативные препараты:

- микафунгин, 50 мг в сутки внутривенно;
- вориконазол, 200 мг 2 раза в сутки внутрь или внутривенно.

Реципиентам алло-ТГСК в период гранулоцитопении и пребывания в палатах без НЕРА-фильтров; при проведении второй и последующих трансплантаций назначают антимикотики, активные против плесневых грибов:

- микафунгин, 50 мг в сутки внутривенно, — предпочтительно;
- вориконазол, 200 мг 2 раза в сутки внутрь или внутривенно;
- позаконазол в суспензии, 200 мг 3 раза в сутки внутрь;

- позаконазол в таблетках, 300 мг 2 раза в сутки в 1-й день, далее — по 300 мг 1 раз в сутки.

Реципиентам алло-ТГСК в период гранулоцитопении при наличии у них перед кондиционированием каких-либо изменений в легких и отсутствии инвазивного микоза в анамнезе (например, после новой корона-вирусной инфекции, у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких и др.) назначают антимикотики, активные против мицелиальных грибов:

- вориконазол, 200 мг 2 раза в сутки внутрь или внутривенно, — предпочтительно;
- позаконазол в суспензии, 200 мг 3 раза в сутки внутрь;
- позаконазол в таблетках, 300 мг 2 раза в сутки в 1-й день, далее — по 300 мг 1 раз в сутки.

Реципиентам алло-ТГСК с РТПХ при назначении глюкокортикоидов в дозе 1 мг/кг и более для противогрибковой профилактики назначают:

- позаконазол внутрь в таблетках или в суспензии (дозы см. выше) — при нормальной функции печени, возможности применения препаратов внутрь и отсутствии удлинения интервала QT;
- вориконазол внутривенно или внутрь — при нормальной функции печени и отсутствии удлинения интервала QT;
- анидулафунгин, 200 мг в 1-й день, далее 100 мг в сутки, или микафунгин, 50 мг в сутки, — при повышении активности печеночных ферментов. В случае нормализации печеночных показателей необходимо назначить позаконазол или вориконазол;
- изавуконазол, 200 мг 3 раза в сутки в 1-й день, далее — 200 мг 1 раз в сутки.

Назначение и отмена антимикотиков для профилактики

Антимикотики для профилактики назначают реципиентам алло-ТГСК с 1-го дня предтрансплантационного кондиционирования, реципиентам с РТПХ и терапией преднизолона в дозе ≥ 1 мг/кг — с 1-го дня применения глюкокортикоидов.

Критерии отмены противогрибковых препаратов:

- У реципиентов алло-ТГСК без РТПХ — восстановление количества гранулоцитов ($> 0,5 \times 10^9/\text{л}$).
- У больных с РТПХ при условии наличия всех следующих факторов: контроль над РТПХ, снижение дозы преднизолона до 0,15—0,3 мг/кг в сутки, количество гранулоцитов $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$, отсутствие лимфопении и ЦМВ-инфекции. Особое внимание при отмене профилактического приема противогрибковых препаратов, активных в отношении плесневых грибов, следует уделять больным с доказанной или предполагаемой РТПХ легких. При наличии мокроты

у больных с РТПХ легких необходимо во всех случаях проводить микологическое исследование на плесневые грибы. При обнаружении плесневых грибов в мокроте, даже при минимальных изменениях в легких, следует назначать позаконазол (суспензия, по 400 мг 2 раза в сутки после еды), или позаконазол в таблетках (300 мг 2 раза в сутки в 1-й день, затем 300 мг 1 раз в сутки), или изавуконазол (200 мг 3 раза в сутки в 1—2-й дни, затем 200 мг 1 раз в сутки внутрь или внутривенно), или вориконазол (200 мг 2 раза в сутки внутрь, у больных весом > 85 кг суточную дозу вориконазола назначают из расчета 8 мг/кг в сутки, максимальная доза — 300 мг 2 раза в сутки).

Вторичная противогрибковая профилактика

Проводится больным, имевшим в анамнезе инвазивный микоз, вызванный плесневыми грибами (инвазивный аспергиллез, мукормикоз и др.), а также диссеминированный инвазивный кандидоз (инвазия в органы). Назначение и отмена антимикотиков как при первичной профилактике.

Больным, имевшим кандидемию без диссеминации в органы, профилактику не проводят.

Противогрибковые препараты, используемые для вторичной профилактики больным, имевшим в анамнезе

- кандидемию с диссеминацией в органы или хронический диссеминированный кандидоз:
 - ▲ флуконазол, 400 мг в сутки внутривенно или внутрь;
 - ▲ каспофунгин, 50 мг в сутки внутривенно;
 - ▲ микафунгин, 100 мг в сутки внутривенно;
 - ▲ анидулафунгин, 100 мг в сутки внутривенно.
- инвазивный аспергиллез:
 - ▲ вориконазол, 200 мг 2 раза в сутки внутрь или внутривенно;
 - ▲ позаконазол (суспензия), 200 мг 3 раза в сутки после еды;
 - ▲ позаконазол (таблетки), 300 мг 2 раза в сутки в 1-й день, далее 300 мг 1 раз в сутки;
 - ▲ изавуконазол, 200 мг 3 раза в сутки внутрь или внутривенно в первые 2 дня, затем 200 мг 1 раз в сутки.
- мукормикоз:
 - ▲ позаконазол (суспензия), 200 мг 3 раза в сутки после еды;
 - ▲ позаконазол (таблетки), 300 мг 2 раза в сутки в 1-й день, далее 300 мг 1 раз в сутки;
 - ▲ изавуконазол, 200 мг 3 раза в сутки внутрь или внутривенно первые 2 дня, затем 200 мг 1 раз в сутки.

Амфотерицин В не назначают для профилактики инвазивных микозов по причине его высокой токсичности.

Противогрибковые препараты, назначенные для вторичной профилактики, отменяют при восстановлении гранулоцитов ($> 0,5 \times 10^9/\text{л}$).

Профилактика пневмоцистной пневмонии

Профилактику пневмоцистной пневмонии [12] реципиентам алло-ТГСК начинают от дня констатации приживления костного мозга и проводят не менее 6 месяцев, включая весь период иммуносупрессивной терапии до повышения уровня CD4+ более 200 клеток в 1 мм^3 .

Препаратом выбора для профилактики является триметоприм/сульфаметоксазол. При непереносимости триметоприма/сульфаметоксазола альтернативный вариант профилактики — пентамидин.

Ежедневное применение триметоприма/сульфаметоксазола одновременно предупреждает инфекции, вызываемые *Toxoplasma gondii*, *Listeria monocytogenes*, *Nocardia asteroides*.

Назначение

- С момента восстановления гранулоцитов.
- Допустимо назначение в период кондиционирования.

Длительность применения

- До 180-го дня после трансплантации.
- Более продолжительный период, если проводится иммуносупрессивное лечение, а также у пациентов с хронической РТПХ.

Назначают один из следующих препаратов:

- Триметоприм/сульфаметоксазол, 480 мг ежедневно.
- Дапсон, 100 мг внутрь ежедневно.
- Пентамидин, 300 мг в виде аэрозоля через респираторный ингалятор или внутривенно каждые 3—4 недели.

Инфицированные *Pneumocystis jirovecii* пациенты не должны находиться в одной палате с другими иммунокомпрометированными больными.

Антибактериальная профилактика при нейтропении

Антибактериальная профилактика при нейтропении [13] возможна реципиентам аллогенных ГСК, у которых отсутствует колонизация слизистой прямой кишки энтеробактериями с продукцией БЛРС.

Для профилактики используют цiproфлоксацин, 0,5 г внутрь 2 раза в сутки, или левофлоксацин, 0,5 г внутрь 1 раз в сутки.

Цiproфлоксацин или левофлоксацин отменяют при детекции колонизации продуцентами БЛРС в процессе мониторинга ректальных

мазков либо при назначении внутривенного введения антибиотиков по поводу лихорадки в период нейтропении.

Перед проведением профилактики необходимо взять мазки со слизистой оболочки кишечника с целью определения колонизации грам-отрицательными полирезистентными бактериями. При выделении энтеробактерий с продукцией БЛРС фторхинолоны для профилактики не назначают ввиду их неэффективности в отношении этих микроорганизмов. Микробиологическое исследование ректальных мазков проводят 1 раз в неделю.

Профилактика вирусных инфекций

Показана профилактика инфекций, вызванных вирусами герпеса 1-го и 2-го типа и опоясывающего герпеса [3].

Используют следующие схемы:

- ацикловир внутривенно, 250 мг/м² или 5 мг/кг каждые 8—12 часов;
- ацикловир, таблетки по 200 мг 3 раза в сутки;
- валацикловир, 500 мг 2 раза в сутки;
- фамцикловир, 500 мг 2 раза в сутки.

Профилактику начинают с начала режима кондиционирования и продолжают до 6—12 месяцев после трансплантации.

Перевод с пероральной на внутривенную форму проводят у больных с мукозитом. У пациентов с клинически значимой хронической РТПХ или получающих иммуносупрессивную терапию, включая глюкокортикоиды, профилактический прием противогерпетических препаратов продолжается до отмены системной иммуносупрессии.

Антивирусная профилактика герпеса проводится всем пациентам вне зависимости от их серологического статуса.

Профилактика ЦМВ-инфекции может быть использована у пациентов [4]:

- с реактивацией ЦМВ по данным ПЦР на момент начала кондиционирования;
- с положительным титром IgM к ЦМВ;
- донор которых имеет положительный титр IgM к ЦМВ.

Профилактика проводится ганцикловиром, 5 мг/кг в сутки за 2 введения с начала кондиционирования или с дня 0. Профилактика завершается после приживления трансплантата или при необходимости проведения превентивной терапии. Профилактика герпеса ацикловиром при использовании ганцикловира не проводится.

Литература

1. Akhmedov M, Klyasova G, Kuzmina L et al. Incidence, etiology, risk factors and outcomes of pre-engraftment bloodstream infections after first and second allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2022; 24(3): e13842.
2. Федорова А. В., Клясова Г. А., Фролова И. Н. и др. Антибиотикорезистентность *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры от больных с опухолями системы крови, в разные периоды исследования. *Онкогематология* 2021; 16(1):45–54.
3. Styczynski J, Reusser P, Einsele H et al. Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the Second European Conference on Infections in Leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43(10):757–770.
4. Ljungman P, Camara R, Cordonnier C et al. Management of CMV, HHV-66 HHV-7 and Kaposi–sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42(4): 227–240.
5. Averbuch D, Orasch C, Cordonnier C et al. European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance: summary of the 2011 4th European Conference on Infections in Leukemia. *Haematologica* 2013; 98(12):1826–1835.
6. Коробова А. Г., Клясова Г. А., Охмат В. А. и др. Колонизация слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией β-лактамаз расширенного спектра при лечении острых миелоидных лейкозов и лимфом. *Гематология и трансфузиология* 2017; 62(3):116–123.
7. Walker J, Edwards WS, Hall NM, Pappas PG. Challenges in management of invasive infections in stem cell transplant. *Transpl Infect Dis* 2023; 25(Suppl 1): e14175.
8. Tissot F, Agrawal S, Pagano L et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica* 2017; 102:433–444.
9. Ullmann A, Aguado J, Arkan-Akdagli S et al. Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clin Microbiol Infect* 2018; 24(Suppl 1):e1–e38.
10. Slavin MA, Chen YC, Cordonnier C et al. When to change treatment of acute invasive aspergillosis: an expert viewpoint. *J Antimicrob Chemother* 2021; 77(1): 16–23. DOI: 10.1093/jac/dkab317.
11. Cornely OA, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis* 2019; 19(12):e405–e421.
12. Maertens J, Cesaro S, Maschmeyer G et al. ECIL guidelines for preventing pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(9): 2397–2404.

13. Клясова Г. А., Ахмедов М. И., Кузьмина Л. А. и др. Риск развития инфекций кровотока у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от колонизации кишечника полирезистентными грамотрицательными бактериями и применения фторхинолонов в период нейтропении. Онкогематология 2023; 1:90—101.

А. А. Дмитрива, Т. А. Туполева, Г. А. Клясова,
Д. С. Тихомиров, М. Ю. Дроков

Глава 21.

Цитомегаловирусная инфекция при трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток

Введение

Одним из серьезных и угрожающих жизни осложнений при трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) является цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ-инфекция), и в настоящее время она является лидирующей причиной смертности среди инфекционных заболеваний у пациентов после алло-ТГСК, особенно в первые 100 дней после алло-ТГСК [1—3].

Распространенность инфицирования цитомегаловирусом (ЦМВ) в общей популяции составляет 40—100% и имеет довольно высокую вариабельность в зависимости от региона проживания [4, 5]. У иммунокомпетентных людей ЦМВ находится под контролем иммунной системы, сохраняясь в латентном состоянии в организме человека и не проявляясь клинически.

У иммунокомпрометированных больных, а именно у пациентов после трансплантации солидных органов, гемопозитических стволовых клеток (ГСК), больных ВИЧ-инфекцией, пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию, новорожденных, беременных, ЦМВ может приводить к развитию тяжелых поражений различных органов и систем [6].

Наиболее тяжело ЦМВ-инфекция протекает у реципиентов аллогенных ГСК. Недостаточная и/или отсроченная реконституция

ЦМВ-специфических CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов после алло-ТГСК предрасполагает к развитию ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни [7, 8].

Варианты течения ЦМВ-инфекции у реципиентов аллогенных ГСК различны: от бессимптомной ЦМВ-инфекции до тяжелой ЦМВ-болезни с множественным поражением органов [9, 10]. Помимо поражения органов ЦМВ-инфекция при алло-ТГСК может оказывать прямое действие на трансплантат, а именно вызывать несостоятельность трансплантата, длительную цитопению, ведущую к развитию других бактериальных и грибковых инфекций [11, 12].

ЦМВ-серопозитивность [положительный анализ на антитела к ЦМВ (анти-CMV IgG)] широко распространена во всем мире. Статус ЦМВ донора и реципиента важен также для выбора схемы профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), но, к сожалению, в условиях поиска неродственного донора не всегда удастся выбрать серонегативного донора для реципиента аллогенных ГСК [4].

По различным данным, ЦМВ-инфекция наблюдается примерно у 60—70% ЦМВ-серопозитивных пациентов, а первичная ЦМВ-инфекция поражает 20—30% ЦМВ-серонегативных пациентов, которым алло-ТГСК была выполнена от серопозитивного донора [13].

Кроме того, авторами описана взаимосвязь ЦМВ-инфекции и РТПХ, а именно интересен тот факт, что РТПХ и иммуносупрессивная терапия, применяемая для ее лечения, повышают риск развития ЦМВ-инфекции. В некоторых работах описаны и обратные ситуации, когда ЦМВ-инфекция была ассоциирована с дебютом РТПХ [14, 15].

Описаны также «благоприятные» свойства ЦМВ — инфекция приводит к потенцированию противоопухолевого эффекта, индуцируя реакцию «трансплантат против опухоли» (РТПО), что препятствует развитию рецидива у пациентов с острым миелоидным лейкозом, хроническим миелолейкозом [16, 17].

Несмотря на широкое внедрение стратегии по профилактике ЦМВ-инфекции у реципиентов аллогенных ГСК, превентивной и таргетной терапии ЦМВ-инфекции, летальность, связанная с этим, среди реципиентов ГСК по-прежнему высока и, по разным данным, составляет 45—60% [8].

Понятие цитомегаловирусной инфекции и цитомегаловирусной болезни

В настоящее время в клинической практике для пациентов после алло-ТГСК были сформированы ключевые понятия, применяемые при установлении диагноза и варианта ЦМВ-инфекции, оценке

ответа на терапию и констатации резистентности к противовирусным препаратам [18]. При этом ЦМВ-инфекция при алло-ТГСК имеет свои особенности диагностики, что и нашло отражение в этом обзоре.

ЦМВ-инфекция (эквивалентным является термин *ЦМВ-репликация*) — состояние, характеризующееся изоляцией вируса и/или детекцией вирусных белков (антигена) либо нуклеиновых кислот в любой биологической жидкости или ткани организма независимо от наличия или отсутствия любых клинических проявлений [18]. Важно отметить, что установление диагноза ЦМВ-инфекции не связано с наличием или отсутствием клинических симптомов и не во всех случаях требует начала таргетной терапии (не путать с превентивной терапией).

ЦМВ-болезнь — это ЦМВ-инфекция, протекающая с поражением органов-мишеней и имеющая молекулярно-генетическое, культуральное, гистологическое и/или иммуногистохимическое подтверждение поражения ЦМВ определенного органа. Органом-мишенью может выступить любой орган реципиента. Важно отметить, что без детекции ЦМВ в ткани органа-мишени говорить о ЦМВ-болезни нельзя, даже в том случае, если клиническое улучшение было получено при эмпирическом назначении противовирусных препаратов.

Современные методы детекции цитомегаловируса

Существует несколько основных методов выявления ЦМВ.

Полимеразная цепная реакция

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — широкодоступный, быстрый и чувствительный метод диагностики ЦМВ-инфекции. Метод обнаруживает и количественно определяет нуклеиновые кислоты ЦМВ [19].

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) может быть извлечена из цельной крови, лейкоцитов, плазмы или любой другой ткани (образца ткани) или жидкости (моча, спинномозговая жидкость, жидкость бронхоальвеолярного лаважа и др.). ПЦР-анализ на ЦМВ может быть качественным, когда подтверждается наличие или отсутствие ЦМВ в исследуемом образце, или количественным, при котором измеряется количество вирусной ДНК в соответствующем образце [20, 21].

Преимуществами ПЦР являются возможность одномоментной обработки большого количества образцов за небольшой промежуток времени, определение вирусной нагрузки с высокой чувствительностью, а также проведение анализа несмотря на цитопению [19].

Определение антигена цитомегаловируса

Антиген ЦМВ pp65 — это структурный белок ЦМВ, который выявляется в лейкоцитах периферической крови во время активной ЦМВ-инфекции. Для определения антигена используется моноклональное антитело к антигену pp65. Определение pp65 проводят методом иммунофлуоресцентного окрашивания. Результат указывается как количество pp65-положительных клеток на количество подсчитанных лейкоцитов.

Таким образом, *ЦМВ-антигенемия* — это выявление pp65 (антигена ЦМВ) в лейкоцитах периферической крови. Поскольку метод обнаруживает вирусный белок в лейкоцитах, он неинформативен у пациентов с лейкопенией. Количественная ПЦР предпочтительнее теста на антиген у пациентов с лейкопенией [19, 22, 23].

Культуральные методы диагностики

Культуральный метод состоит из оценки цитопатического эффекта ЦМВ на человеческие фибробласты [19]. В этом подходе используют биоматериал человека (кровь и другие биологические жидкости), которые помещают на питательную среду вместе с клетками фибробластов человека. Фибробласты инфицируются ЦМВ, после чего в течение от 2 до 21 дня можно оценить прямой цитопатический эффект ЦМВ, напрямую связанный с количеством вируса в образце). Из минусов стоит отметить, что этот метод диагностики требует 2–3 недели исследования, что неприменимо у тяжелых пациентов после алло-ТГСК [19]. Также культуральный метод обладает более низкой специфичностью для диагностики ЦМВ-инфекции по сравнению с количественной ПЦР и детекцией антигена pp65 [19].

Иммуногистохимические методы диагностики

С помощью гистологических и иммуногистохимических методов могут быть выявлены антигены ЦМВ, а также цитопатические изменения в образцах тканей, характерные для ЦМВ-инфекции. Анализ выполняют непосредственно на образцах тканей, что является очень специфичным для диагностики ЦМВ-болезни [19, 24]. Ограничивающим фактором исследования является инвазивность процедуры получения материала, однако в настоящее время для установления диагноза ЦМВ-болезни биопсия необходима.

Иммуногистохимическое исследование проводят в основном на образцах тканей и/или биологических жидкостей. Как правило, используют замороженные срезы образцов биопсийной ткани и/или центри-

фугирование клеток на предметном стекле, затем наносят моно- или поликлональные антитела к антигенам ЦМВ и далее визуализируют с помощью стандартных методик (иммуноферментной, иммунофлуоресцентной). Этот метод является более чувствительным и высокоспецифичным по сравнению с гистологическим исследованием, но очень трудоемок и требует наличия опытного персонала [25].

Цитомегаловирусная инфекция в клинической практике

Основные определения для ЦМВ-инфекции были предложены рабочей группой форума по разработке лекарственных средств для лечения ЦМВ-инфекции (The CMV Drug Development Forum) с целью применения их у реципиентов трансплантированных солидных органов и ГСК [26].

ЦМВ могут быть инфицированы реципиент аллогенных ГСК, донор или и донор и реципиент. Выделяют несколько состояний, ассоциированных с ЦМВ, а именно первичная ЦМВ-инфекция, реинфекция, реактивация ЦМВ, а также рецидивирующая ЦМВ-инфекция [27].

Первичной ЦМВ-инфекцией называют впервые выявленную ЦМВ-инфекцию у пациента, у которого до алло-ТГСК ЦМВ не был обнаружен ни молекулярными, ни серологическими методами диагностики.

Реинфекция ЦМВ — это вариант ЦМВ-инфекции, когда у реципиента обнаружен новый штамм ЦМВ, отличный от первоначального. Для подтверждения используют методы секвенирования. Без этого подтверждения установление реинфекции невозможно.

Реактивация ЦМВ — это вариант ЦМВ-инфекции, для которого характерно обнаружение вирусных штаммов (ранее выявляемого и текущего), неразличимых при секвенировании областей вирусного генома [18]. Риск реактивации выше в условиях иммуносупрессии, а также ассоциирован с высоким риском развития ЦМВ-болезни с вовлечением органов-мишеней, несостоятельности трансплантата, лейкопении, посттрансплантационных лимфопролиферативных заболеваний и высокой смертностью [28, 29].

Без этого подтверждения установление реактивации ЦМВ-инфекции невозможно.

На рис. 1 схематично указаны критерии определения реинфекции и реактивации.

Рецидивирующей ЦМВ-инфекцией обозначают выявление новой ЦМВ-инфекции у пациента с ранее диагностированной и прелечен-

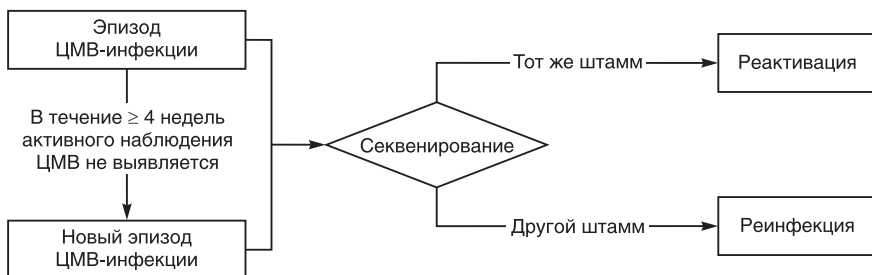


Рисунок 1. Определение варианта ЦМВ-инфекции.

ной ЦМВ-инфекцией спустя минимум 4 недели активного наблюдения после момента излечения. Рецидивирующая ЦМВ-инфекция может быть результатом реактивации латентного вируса (реактивация) или повторного инфицирования (реинфекция) [18].

Современное представление о ЦМВ-инфекции подчеркивает, что реинфекция происходит довольно часто. Но клиническое применение терминов «реинфекция» и «реактивация» в рутинной практике фактически невозможно, так как секвенирование образцов ДНК ЦМВ выполняют очень редко [30].

Исходя из этого, в клинической практике использование терминов «реактивация» и «реинфекция» невозможно, за исключением тех случаев, когда выполняется секвенирование архивных и текущих образцов и можно доказать сходство или различие с предшествующими штаммами.

Цитомегаловирусная болезнь

ЦМВ-болезнь развивается у 10—40% пациентов, перенесших алло-ТГСК [31—33].

За последние несколько десятилетий были достигнуты значительные успехи в диагностике и лечении ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни. В ходе клинических исследований стала очевидной необходимость повсеместного применения единой терминологии для определения состояний и осложнений, ассоциированных с ЦМВ.

В качестве первой попытки выработать единые подходы к диагностике и лечению ЦМВ-инфекции в материалах 4-й Международной конференции по ЦМВ во Франции в 1993 г. были опубликованы основные положения и определения [34]. Затем эти определения были обновлены на 5-й Международной конференции по ЦМВ в Стокгольме в 1995 г. [35] и применялись вплоть до 2002 г., когда Ljungman et al. опубликовали обновленные и расширенные определения понятий

ЦМВ-инфекции, применяемые у пациентов после трансплантации, а также у других иммунокомпрометированных больных [36]. Эти определения широко применяются клиницистами разных стран и не имеют альтернатив.

ЦМВ-болезнь включает в себя две клинические формы: непосредственно ЦМВ-болезнь с вовлечением органов-мишеней и ЦМВ-синдром.

ЦМВ-синдром — это состояние, которое диагностируют только у реципиентов трансплантированных солидных органов [37]. Оно включает в себя признаки ЦМВ-инфекции, лихорадку $> 38^{\circ}\text{C}$ не менее 2 дней, нарастающую общую слабость, лейкопению, нейтропению, тромбоцитопению, повышение активности печеночных аминотрансфераз более двух норм (неприменимо к реципиентам печени). При ЦМВ-синдроме обнаружение ЦМВ в тканях не является обязательным, но все равно требуется подтверждение ЦМВ-инфекции [18, 38]. Понятие ЦМВ-синдром не может применяться для реципиентов аллогенных ГСК, так как невозможно исключить другие причины, которые могли бы привести к тем же клиническим и лабораторным проявлениям, что и при ЦМВ-синдроме, даже несмотря на то, что в ряде случаев у пациентов после алло-ТГСК применение противовирусных препаратов помогает достичь клинических улучшений (снижение температуры, разрешение цитопении и т. д.). Таким образом, у реципиентов аллогенных ГСК при выявлении ДНК ЦМВ в крови и наличии клинических проявлений, характерных для ЦМВ-синдрома, мы можем говорить только о ЦМВ-инфекции, но не о ЦМВ-синдроме.

Признаки и симптомы ЦМВ-болезни с вовлечением органов-мишеней бывает трудно распознать. Для подтверждения ЦМВ-болезни с вовлечением органов-мишеней необходимо наличие клинических симптомов, соответствующих поражению органа-мишени, а также определение ЦМВ в биоптате органа-мишени.

При установлении диагноза ЦМВ-болезни с поражением органа-мишени применяют дополнительные определения к диагнозу, а именно понятия доказанной (подтвержденной), вероятной и возможной ЦМВ-болезни. Следует отметить, что эта классификация применима не ко всем органам.

Понятие «доказанная ЦМВ-болезнь с вовлечением органов-мишеней» применима только для диагностики ЦМВ-пневмонии, ЦМВ-болезни с вовлечением ЖКТ. Варианты доказанной и вероятной ЦМВ-болезни применяют как для предыдущих состояний, так и для диагноза ЦМВ-энцефалита. Для вышеописанных вариантов ЦМВ-болезни, а также при вовлечении иных органов-мишеней характерен диагноз вероятной ЦМВ-инфекции.

Наиболее частые варианты ЦМВ-болезни с вовлечением органов-мишеней указаны в табл. 1. В таблице не указаны другие формы ЦМВ-болезни, учитывая редкость развития ЦМВ-болезни с вовлечением других органов. Подход к диагностике ЦМВ-болезни другого органа-мишени схож с предложенным в таблице алгоритмом диагностики.

Таблица 1. Критерии диагностики вариантов ЦМВ-болезни с вовлечением органов-мишеней у реципиентов ГСК

ЦМВ-болезнь органа-мишени	Доказанная (подтвержденная)	Вероятная	Возможная
ЦМВ-пневмония	- Клиническая картина пневмонии. - Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате)	- Клиническая картина пневмонии. - Обнаружение ДНК ЦМВ в жидкости БАЛ	Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате) или жидкости БАЛ
ЦМВ с поражением ЖКТ	- Клиническая симптоматика поражения верхнего и/или нижнего отдела ЖКТ. - Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате). - Гистологические изменения, характерные для ЦМВ вне зависимости от наличия или отсутствия РТПХ*	- Клиническая симптоматика поражения верхнего и/или нижнего отдела ЖКТ. - Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате)	Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате)
ЦМВ-гепатит	- Клиническая картина гепатита и лабораторные изменения (нарастание АЛТ, АСТ, общего билирубина). - Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате). - Исключение иных причин гепатита	—	—
ЦМВ-ретинит	- Характерная для ЦМВ офтальмологическая картина. - Обнаружение ДНК ЦМВ в витреальной жидкости	—	—
ЦМВ-энцефалит, энцефалит, энцефалит	- Клиническая картина поражения ЦНС. - Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате)	- Клиническая картина поражения ЦНС. - Обнаружение ДНК ЦМВ в ликворе (исключая контаминацию кровью). - Результаты ЭЭГ	—
ЦМВ-нефрит	- Клиническая картина нефрита. - Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате). - Гистологические изменения, характерные для ЦМВ*	—	—

Таблица 1 (окончание). Критерии диагностики вариантов ЦМВ-болезни с вовлечением органов-мишеней у реципиентов ГСК

ЦМВ-болезнь органа-мишени	Доказанная (подтвержденная)	Вероятная	Возможная
ЦМВ-цистит	• Клиническая картина цистита. • Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате). • Гистологические изменения, характерные для ЦМВ*	—	—
ЦМВ-миокардит	• Клиническая картина миокардита. • Обнаружение ДНК ЦМВ в ткани (биоптате). • Гистологические изменения, характерные для ЦМВ*	—	—

* Гигантские инфицированные клетки с измененным ядром, имеют характерный вид «совиного глаза».

АЛТ — аланинаминотрансфераза; АСТ — аспартатаминотрансфераза; БАЛ — бронхоальвеолярный лаваж; ЖКТ — желудочно-кишечный тракт; ЦНС — центральная нервная система, ЭЭГ — электроэнцефалография.

Отдельного внимания заслуживает вопрос обнаружения ДНК ЦМВ в костном мозге. Следуя критериям диагностики, предложенным Ljungman et al., для верификации ЦМВ-болезни органа-мишени необходимо поражение органа, что проявляется соответствующими клиническими симптомами, а также обнаружение ДНК ЦМВ молекулярным методом в биоптате и/или гистологическое подтверждение ЦМВ [18]. Согласно принятым классификациям и определениям, костный мозг является тканью [39], в связи с чем понятие ЦМВ-болезни с вовлечением костного мозга в клинической практике не применяют. Таким образом, в случае развития цитопений и выявления ЦМВ при гистологическом исследовании можно говорить лишь о ЦМВ-инфекции, но не о ЦМВ-болезни.

Профилактика, превентивная терапия и таргетная терапия цитомегаловирусной инфекции и цитомегаловирусной болезни

В настоящее время не существует единой стратегии мониторинга и предотвращения ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни. В частности, нет стандартных пороговых значений для начала терапии при оценке ДНКемии при мониторинге ЦМВ-инфекции.

Существует несколько подходов к контролю ЦМВ-инфекции: профилактика, превентивная терапия и таргетная терапия.

Профилактика цитомегаловирусной инфекции

Профилактика ЦМВ-инфекции — это проведение мероприятий, направленных на предотвращение ЦМВ-инфекции у серопозитивных реципиентов, а также предотвращение развития первичной ЦМВ-инфекции, ЦМВ-реактивации или рецидивирующей ЦМВ-инфекции.

Стратегия профилактики означает назначение противовирусных препаратов всем реципиентам аллогенных ГСК в течение длительного периода в качестве универсальной профилактики вирусных инфекций. Основная цель этого подхода — предотвратить развитие ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни.

Помимо противовирусных препаратов для профилактики ЦМВ-инфекции следует в качестве заместительной гемотрансфузионной терапии использовать компоненты крови от ЦМВ-серонегативных доноров или лейкоцитредуцированные компоненты крови [40—42].

Превентивная терапия

Превентивная терапия — это стратегия, при которой противовирусные препараты назначаются при бессимптомной ЦМВ-инфекции, обнаруженной с помощью скринингового анализа [43]. В настоящее время превентивная терапия, основанная на мониторинге ДНК ЦМВ в крови методом ПЦР, является основой, позволяющей улучшить посттрансплантационные показатели, однако применение этой стратегии остается на усмотрение трансплантационного центра и зависит от его возможностей [44].

Превентивная терапия включает регулярное ПЦР-исследование образцов крови и назначение противовирусных препаратов при обнаружении ДНК ЦМВ, что предотвращает развитие ЦМВ-болезни [40].

В некоторых исследованиях превентивную терапию начинали при обнаружении методом ПЦР ДНК ЦМВ менее 1500 МЕ/мл (1000 копий/мл) [45]. В другом проспективном исследовании порог 3,983 МЕ/мл и выше считали показанием для начала превентивной терапии у реципиентов солидных органов [46]. Но пороговое значение для старта терапии варьирует в разных центрах в зависимости от метода детекции ЦМВ-инфекции и оценки факторов риска пациента.

Длительность превентивной терапии должна составлять не менее 2 недель, и она считается эффективной при наличии хотя бы одного отрицательного ПЦР-теста [40, 43].

Наращение вирусной нагрузки в течение первых 2 недель терапии не требует смены терапии. Если спустя 2 недели превентивной терапии методом ПЦР детектируется ЦМВ, следует назначить более длительный прием противовирусных препаратов [40].

В случае повторного выделения ДНК ЦМВ методом ПЦР превентивную терапию можно проводить тем же лекарственным препаратом. Следует также отметить, что эффективность терапии может быть усилена за счет снижения дозы иммуносупрессивных препаратов [40].

Превентивная терапия показала свою эффективность в предотвращении развития ЦМВ-болезни и имеет преимущества, снижая токсичность препаратов, благодаря меньшим дозам, и затраты на раннем этапе после алло-ТГСК [44, 47]. Превентивная терапия может использоваться как самостоятельно, так и в сочетании с противовирусной профилактикой [40].

Таргетная терапия цитомегаловирусной инфекции

Таргетная (этиотропная) терапия ЦМВ-инфекции — это назначение противовирусных препаратов для лечения ЦМВ-инфекции, сопровождающейся клиническими симптомами. Длительность терапии варьирует в зависимости от назначаемого препарата, дозы, ответа на противовирусную терапию [40].

Продолжительность лечения определяется индивидуально, исходя из клинической симптоматики и варианта ЦМВ-инфекции, но, как правило, таргетное лечение проводится не менее чем 2 недели [40].

Критерии оценки ответа на противовирусную терапию

При оценке неэффективности проводимой противовирусной терапии используют следующие понятия: рефрактерная и резистентная ЦМВ-инфекция.

Рефрактерная и резистентная ЦМВ-инфекция у реципиентов ГСК остается сложной проблемой из-за ограниченного числа доступных противовирусных препаратов в РФ и связанных с ними серьезных токсических эффектов [48, 49]. В зависимости от ответа на противовирусную терапию и клинического течения заболевания рабочей группой по изучению резистентности ЦМВ-инфекции (CMV Resistance Working Group) были выделены понятия рецидивирующей и рефрактерной ЦМВ-инфекции [18, 26].

Рефрактерная ЦМВ-инфекция — это вариант ЦМВ-инфекции, при котором количество ДНК в крови вырастает (не менее чем в 10 раз) после минимум двух недель адекватной (в рекомендуемых дозах) противовирусной терапии. Важно отметить, что в первые две недели от начала противовирусной терапии нарастание вирусной нагрузки не рассматривается как рефрактерность, так как в этот период продолжа-

ется активная репликация ЦМВ. То есть выполнение мониторинга в первые 14 дней после начала терапии не дает дополнительной информации о рефрактерности или о наличии/отсутствии ответа на терапию. Также стоит отметить, что если противовирусные препараты применяются в субтерапевтических дозах, то увеличение вирусной нагрузки в этом случае не может расцениваться как рефрактерность.

Вероятная рефрактерная ЦМВ-инфекция — это персистенция вирусной нагрузки ЦМВ, которая длится как минимум две недели после начала адекватной противовирусной терапии в рекомендуемых дозах. Однако персистенция ДНК ЦМВ менее 1000 МЕ/мл не должна рассматриваться как рефрактерная ЦМВ-инфекция.

Резистентная ЦМВ-инфекция — это снижение восприимчивости к одному или нескольким противовирусным препаратам в связи с генетической мутацией вируса. Как правило, мутации вируса затрагивают гены, участвующие в анаболизме противовирусных препаратов, например мутации в генах *UL54*, *UL97*, *UL56/89/51* и др. [48]. Вирусные мутации выявляются только методами секвенирования вирусного генома [26]. Повышение дозы противовирусных препаратов может быть эффективным при лечении резистентной ЦМВ-инфекции. Кроме того, важным является снижение доз иммуносупрессивных препаратов, назначенных также пациенту. В мировой практике в качестве рекомендаций для лечения резистентной ЦМВ-инфекции используют противовирусные препараты, которые в настоящий момент не зарегистрированы в РФ, например марибавир [40, 50].

Несмотря на профилактику, превентивную терапию и таргетное лечение ЦМВ-инфекции, резистентность к противовирусным препаратам остается серьезной проблемой у реципиентов аллогенных ГСК. Резистентность к противовирусным препаратам развивается по разным данным у 1—40% пациентов после алло-ТГСК и обычно приводит к пролонгации назначения противовирусных препаратов [40, 51].

Резистентность к противовирусным препаратам можно заподозрить, когда, по данным лабораторных исследований, нарастает содержание антигенов или количество копий ЦМВ в крови, клинически происходит ухудшение течения ЦМВ-болезни органа-мишени и при отсутствии ответа на проводимое лечение спустя 2 недели терапии [40].

Таким образом, различие определений «рефрактерная ЦМВ-инфекция» и «резистентная ЦМВ-инфекция» заключается в том, что рефрактерность — это клиническое определение, основанное на критериях ответа на противовирусную терапию, в то время как резистентная ЦМВ-инфекция является понятием, основанным на лабораторном определении лекарственно устойчивого генотипа или мутаций, которые отвечают за устойчивость к противовирусным препаратам.

На рис. 2 нами предложены схемы, иллюстрирующие алгоритм диагностики ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни, а также варианты эффективности и неэффективности противовирусной терапии.

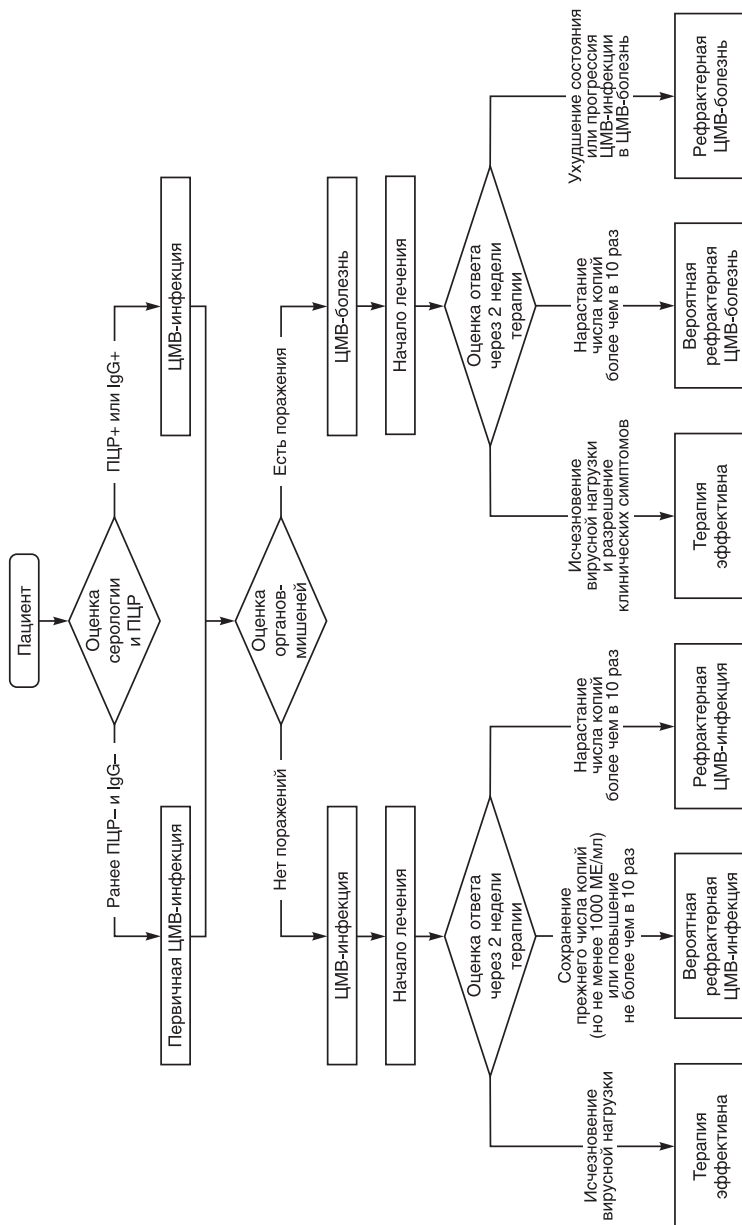


Рисунок 2. Алгоритм диагностики и лечения ЦМВ-инфекции и ЦМВ-болезни.

Критерии оценки ответа на противовирусную терапию при констатации цитомегаловирусной болезни

В рамках терапии ЦМВ-болезни также выделяют варианты ответа на терапию.

Так, *рефрактерная ЦМВ-болезнь* — ухудшение клинических симптомов, соответствующих поражению органа-мишени, после двух недель противовирусной терапии в рекомендуемых дозах. При определении рефрактерности ЦМВ-болезни необходимо исключить другие причины, которые привели к поражению органа (например, иной возбудитель, РТПХ и др.).

Вероятная рефрактерная ЦМВ-болезнь — недостаточное улучшение клинической симптоматики, соответствующей поражению органа-мишени, как минимум спустя две недели после начала противовирусной терапии в рекомендуемых дозах.

Цитомегаловирусная инфекция и реакция «трансплантат против хозяина»

Давно показано, что ЦМВ-инфекция играет роль в повышении риска развития РТПХ [14, 15]. По данным Grefte et al., инфицированные ЦМВ эндотелиальные клетки начинают продуцировать провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин-6, который имеет решающее значение в начальной фазе развития РТПХ, что ведет к увеличению частоты возникновения этого аллоиммунного осложнения [52].

Помимо этого было показано, что применяемая для лечения РТПХ иммуносупрессивная терапия также повышает риск развития ЦМВ-инфекции [14]. При острой РТПХ II—IV степени, сопровождаемой терапией системными глюкокортикоидами, риск развития ЦМВ-инфекции составляет 61%. Это значимо выше, чем при острой РТПХ I степени без проведения системной терапии глюкокортикоидами (35%) [14]. В других работах, например Teira et al., было установлено, что обнаружение ЦМВ-репликации в ранние сроки после алло-ТГСК не ассоциировано с вероятностью развития хронической РТПХ [2].

Цитомегаловирусная инфекция и рецидив основного заболевания

Впервые Lönnqvist et al. в 1986 г. предположили, что ЦМВ-инфекция снижает риск развития рецидива основного заболевания у пациентов после алло-ТГСК [53]. В последующем появились и другие работы. Так, в работе Cantoni ЦМВ-серопозитивность донора и реципиента были ассоциированы с более низкой вероятностью развития рецидива у детей с острыми лейкозами после алло-ТГСК [54]. В работе Elmaagacli et al. у пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) частота развития рецидива у пациентов с ЦМВ-инфекцией и без ЦМВ-инфекции составила 9% и 42% соответственно [17]. В публикации Green et al. на большой когорте пациентов было показано, что развитие ЦМВ-инфекции в первые 100 дней после алло-ТГСК связано с умеренным снижением риска развития раннего рецидива у пациентов с ОМЛ [16]. По данным Teira et al., ЦМВ-серопозитивность донора и реципиента также была ассоциирована с более низкой частотой развития рецидива ОМЛ [2]. В публикации Ito et al. было показано, что ЦМВ-инфекция, возникающая до 100-го дня после алло-ТГСК, является независимым фактором, ассоциированным с уменьшением вероятности развития рецидива у пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) [55]. У пациентов с острым лимфобластным лейкозом, миелодиспластическим синдромом (МДС) и лимфопролиферативными заболеваниями такой связи не было обнаружено [16, 56].

Наблюдаемый противолейкемический эффект может быть опосредован индуцированной ЦМВ экспансией донорских NKG2C+ NK-клеток и $\gamma\delta$ T-клеток, а также CD8+ клеток, коэкспрессирующих CD56+ и CD57+. NKG2C+ NK-клетки, NKG2C+ T-клетки, KIR-экспрессирующие NK-клетки и $\gamma\delta$ -T-клетки активируют цитотоксические T- и NK-клетки, которые, вероятнее всего, атакуют и инфицированные ЦМВ опухолевые клетки и таким образом усиливают РТПО, что в свою очередь ведет к снижению вероятности развития рецидива [57].

Описаны и другие механизмы, когда при ЦМВ-инфекции может происходить экспансия зрелых NK-клеток CD56dimNKG2C+CD57+, которые усиливают продукцию интерферона гамма и опосредуют РТПО [58], а также механизмы перекрестного реагирования $\gamma\delta$ T-клеток, распознающих пептиды ЦМВ и реагирующих против опухолевых клеток [59].

Таким образом, реакция иммунной системы на ЦМВ-инфекцию может снижать вероятность развития рецидива у пациентов с ОМЛ,

ХМЛ [60], однако стоит принимать во внимание тот факт, что у пациентов с ЦМВ-инфекцией после алло-ТГСК летальность, не связанная с рецидивом, остается высокой [51] и, по данным Solano et al., составляет 23% в течение первого года после алло-ТГСК [61]. Также, несмотря на достаточное количество публикаций, посвященных взаимосвязи ЦМВ-инфекции и рецидива, ряд авторов выдвинули предположение, что ЦМВ-специфичный Т-клеточный иммунитет как таковой не влияет на риск развития рецидива, а ключевую роль в этом, вероятно, играют скорость и адекватность реконституции иммунной системы после алло-ТГСК [62, 63].

Цитомегаловирусная инфекция и несостоятельность трансплантата

Несостоятельность трансплантата является серьезным осложнением после алло-ТГСК. Она определяется как отсутствие первоначального приживления донорских клеток (первичная несостоятельность трансплантата) или потеря донорского кроветворения после первоначального приживления (вторичная несостоятельность трансплантата) [64]. Факторы риска несостоятельности трансплантата включают несовместимость по HLA, АВ0, применение режимов кондиционирования пониженной интенсивности, диагноз заболевания (апластическая анемия, гемоглобинопатии, МДС, миелофиброз), применение костного мозга в качестве источника ГСК, дозу CD34+ клеток, применение Т-клеточной деплеции [65, 66].

Роль ЦМВ в развитии несостоятельности трансплантата продолжает обсуждаться. Доказательных исследований, подтверждающих влияние ЦМВ-инфекции на несостоятельность трансплантата у реципиентов аллогенных ГСК, немного. Cho et al. отмечают, что ЦМВ-инфекция может быть ассоциирована с развитием цитопении и, следовательно, развитием несостоятельности трансплантата, однако прямой связи в их исследовании установлено не было [11].

В работе Solano et al. на большом количестве пациентов не было показано взаимосвязи между ранней репликацией и несостоятельностью трансплантата [67]. Более детально вопрос о несостоятельности изучен у реципиентов солидных органов. Инфицирование донора ЦМВ приводило к развитию отторжения среди реципиентов печени [68—70] и почки [71—73]. Также у пациентов после трансплантации почки описан механизм отторжения трансплантата, когда инфицирование ЦМВ эндотелиальных клеток сосудов приводит к васкулопатиям и отторжению [71]. На основании описанных механизмов развития несостояте-

льности трансплантата у реципиентов солидных органов можно предположить, что несостоятельность у реципиентов аллогенных ГСК происходит с подобным механизмом развития, то есть инфицирование ЦМВ гемопоэтических клеток донора и иммунный ответ, связанный с этим, потенциально выступают причиной развития несостоятельности трансплантата у пациентов после алло-ТГСК, однако подтверждения данных предположений в литературе до сих пор не описаны.

Терапия цитомегаловирусной инфекции

Превентивную терапию следует начинать при наличии более 1000 копий/мл ЦМВ, даже при отсутствии клинических проявлений инфекции. При титре менее 1000 копий/мл проводится мониторинг без назначения противовирусных препаратов. Однако необходимо отметить, что нет четких рекомендаций по стартовой терапии в зависимости от количества копий, этот вопрос остается открытым и в настоящее время определяется клинической практикой того или иного центра [74].

При наличии ЦМВ-болезни любой локализации терапия назначается вне зависимости от количества исследованных копий ЦМВ в сыворотке. Для стартовой терапии следует назначать ганцикловир, 10 мг/кг в сутки внутривенно, дозу разделяют на два введения. Длительность лечения составляет не менее 2 недель. В последующем назначают поддерживающую терапию ганцикловиром, если виремия продолжает определяться через 2 недели. Здесь также стоит отметить, что длительность применения препаратов и показаний к их отмене чаще всего зависит от практики того или иного центра [74]. Тактика нашего центра описана выше.

При резистентности, когда выполнено секвенирование вирусного генома, назначают фоскарнет, 60 мг/кг 3 раза в сутки внутривенно (введение в течение 1 часа) или 90 мг/кг 2 раза в сутки (введение в течение 1,5—2 часов). Длительность лечения составляет не менее 2 недель. Если виремия продолжает определяться через 2 недели при отсутствии возможности смены терапии, альтернативным подходом является продолжение профилактической дозы ганцикловира (5 мг/кг в сутки за 2 введения) при снижении уровня системной иммуносупрессии. Внутривенный иммуноглобулин G человеческий также может добавляться к комплексной терапии ЦМВ-болезни при уровне иммуноглобулинов G в крови менее 4 г/л или при персистирующей инфекции.

Литература

1. Sousa H, Boutolleau D, Ribeiro J et al. Cytomegalovirus infection in patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Portugal: a five-year retrospective review. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(12):1958—1967. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.08.010.
2. Teira P, Battiwalla M, Ramanathan M et al. Early cytomegalovirus reactivation remains associated with increased transplant-related mortality in the current era: A CIBMTR analysis. *Blood* 2016; 127(20):2427—2438. DOI: 10.1182/blood-2015-11-679639.
3. Sun RJ, Wei ZJ, Liu DY et al. Efficacy and safety of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) for 67 pediatric patients with high risk T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL). *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25(3):S111—112. DOI: 10.1016/J.BBMT.2018.12.387.
4. Zuhair M, Smit GSA, Wallis G et al. Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol* 2019; 29(3):e2034. DOI: 10.1002/RMV.2034.
5. Seo S, Cho Y, Park J. Serologic screening of pregnant korean women for primary human cytomegalovirus infection using IgG avidity test. *Ann Lab Med* 2009; 29(6):557—562. DOI: 10.3343/kjlm.2009.29.6.557.
6. Boeckh M, Geballe AP. Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle. *J Clin Invest* 2011; 121(5):1673. DOI: 10.1172/JCI45449.
7. Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ et al. Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor. *N Engl J Med* 1995; 333(16):1038—1044. DOI: 10.1056/NEJM199510193331603.
8. Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR et al. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood* 2003; 101(2):407—414. DOI: 10.1182/BLOOD-2002-03-0993.
9. Bhat V, Joshi A, Sarode R et al. Cytomegalovirus infection in the bone marrow transplant patient. *World J Transplant* 2015; 5(4):287. DOI: 10.5500/WJT.V5.I4.287.
10. Ljungman P. CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42(S1):S70—S72. DOI: 10.1038/bmt.2008.120.
11. Cho SY, Lee DG, Kim HJ. Cytomegalovirus infections after hematopoietic stem cell transplantation: current status and future immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2019; 20(11):2666. DOI: 10.3390/ijms20112666.
12. Mattsson J, Ringdén O, Storb R. Graft failure after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(1):165—170. DOI: 10.1016/J.BBMT.2007.10.025.
13. Einsele H, Ljungman P, Boeckh M. How I treat CMV reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2020; 135(19):1619—1629. DOI: 10.1182/blood.2019000956.
14. Cantoni N, Hirsch HH, Khanna N et al. Evidence for a bidirectional relationship between cytomegalovirus replication and acute graft-versus-host disease.

- Biol Blood Marrow Transplant 2010; 16(9):1309—1314. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.03.020.
15. Suessmuth Y, Betz K, Yu A et al. Potent interaction between CMV reactivation and GVHD: Immunologic evidence for blunting of CMV-driven immune reconstitution in the setting of GVHD. *Blood* 2020; 136(Suppl 1):50. DOI: 10.1182/BLOOD-2020-141856.
 16. Green ML, Leisenring WM, Xie H et al. CMV reactivation after allogeneic HCT and relapse risk: evidence for early protection in acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 122(7):1316. DOI: 10.1182/BLOOD-2013-02-487074.
 17. Elmaagacli AH, Steckel NK, Koldehoff M et al. 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. *Blood* 2011; 118(5):1402—1412. DOI: 10.1182/blood-2010-08-304121.
 18. Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH et al. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant patients for use in clinical trials. *Clin Infect Dis* 2017; 64(1):87—91. DOI: 10.1093/cid/ciw668.
 19. Razonable RR, Inoue N, Pinninti SG et al. Clinical diagnostic testing for human cytomegalovirus infections. *J Infect Dis* 2020; 221(Suppl 1):S74—S85. DOI: 10.1093/INFDIS/JIZ601.
 20. Evans PC, Soin A, Wreghitt TG et al. Qualitative and semiquantitative polymerase chain reaction testing for cytomegalovirus DNA in serum allows prediction of CMV related disease in liver transplant recipients. *J Clin Pathol* 1998; 51(12): 914—921. DOI: 10.1136/jcp.51.12.914.
 21. Einsele H. Polymerase chain reaction to evaluate antiviral therapy for cytomegalovirus disease. *Lancet* 1991; 338(8776):1170—1172. DOI: 10.1016/0140-6736(91)92032-W.
 22. Jerry Teng CL, Wang PN, Chen YC et al. Cytomegalovirus management after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: A mini-review. *J Microbiol Immunol Infect* 2021; 54(3):341—348. DOI: 10.1016/J.JMII.2021.01.001.
 23. Breda G, Almeida B, Carstensen S et al. Human cytomegalovirus detection by real-time PCR and pp65-antigen test in hematopoietic stem cell transplant recipients: a challenge in low and middle-income countries. *Pathog Glob Health* 2013; 107(6):312. DOI: 10.1179/2047773213Y.0000000114.
 24. Ross SA, Novak Z, Pati S et al. Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infect Disord Drug Targets* 2011; 11(5):466—474. DOI: 10.2174/187152611797636703.
 25. Paya CV, Holley KE, Wiesner RH et al. Early diagnosis of cytomegalovirus hepatitis in liver transplant recipients: Role of immunostaining, DNA hybridization and culture of hepatic tissue. *Hepatology* 1990; 12(1):119—126. DOI: 10.1002/hep.1840120119.
 26. Chemaly RF, Chou S, Einsele H et al. Definitions of resistant and refractory cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients for use in clinical trials. *Clin Infect Dis* 2019; 68(8):1420—1426. DOI: 10.1093/CID/CIY696.
 27. Griffiths P. New vaccines and antiviral drugs for cytomegalovirus. *J Clin Virol* 2019; 116:58—61. DOI: 10.1016/J.JCV.2019.04.007.

28. Forte E, Zhang Z, Thorp EB et al. Cytomegalovirus latency and reactivation: an intricate interplay with the host immune response. *Front Cell Infect Microbiol* 2020; 10:130. DOI: 10.3389/FCIMB.2020.00130.
29. Ljungman P, Brand R, Hoek J et al. Donor cytomegalovirus status influences the outcome of allogeneic stem cell transplant: a study by the European group for blood and marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 2014; 59(4):473–481. DOI: 10.1093/CID/CIU364.
30. 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. *Infect Dis Ther* 2018; 7(1):1–16. DOI: 10.1007/S40121-017-0180-Z.
31. Boeckh M, Ljungman P. How we treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* 2009; 113(23):5711–5719. DOI: 10.1182/blood-2008-10-143560.
32. Asano-Mori Y, Kanda Y, Oshima K et al. Clinical features of late cytomegalovirus infection after hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol* 2008; 87(3):310–318. DOI: 10.1007/s12185-008-0051-1.
33. Han SH, Yoo SG, Do Han K et al. The incidence and effect of cytomegalovirus disease on mortality in transplant recipients and general population: Real-world nationwide cohort data. *Int J Med Sci* 2021; 18(14):3333–3341. DOI: 10.7150/IJMS.62621.
34. Ljungman P, Griffiths P, Michelson S. Definitions of cytomegalovirus infection and disease. In: Michelson S, Plotkin S (editors). *Multidisciplinary approach to understanding cytomegalovirus disease*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1993. P. 233–237.
35. Ljungman P. CMV definitions and new syndromes. In: Ehrnst A, Ljungman P (editors). *Proceedings from the 5th International Cytomegalovirus Conference (Stockholm)*. *Scand J Infect Dis* 1995; 99:87–89.
36. Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 34(8):1094–1097. DOI: 10.1086/339329.
37. Razonable RR. Management strategies for cytomegalovirus infection and disease in solid organ transplant recipients. *Infect Dis Clin North Am* 2013; 27(2):317–342. DOI: 10.1016/j.idc.2013.02.005.
38. Dioverti MV, Razonable RR. Clinical utility of cytomegalovirus viral load in solid organ transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis* 2015; 28(4):317–322. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000173.
39. Bentley SA. Bone marrow connective tissue and the haemopoietic microenvironment. *Br J Haematol* 1982; 50(1):1–6. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1982.tb01884.x.
40. Ljungman P, de la Camara R, Robin C et al. 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). *Lancet Infect Dis* 2019; 19(8):e260–e272. DOI: 10.1016/S1473-3099(19)30107-0.

41. Mainou M, Alahdab F, Tobian AAR et al. Reducing the risk of transfusion-transmitted cytomegalovirus infection: a systematic review and meta-analysis. *Transfusion* 2016; 56(6 Pt 2):1569—1580. DOI: 10.1111/TRF.13478.
42. Nichols WG, Price TH, Gooley T et al. Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection after receipt of leukoreduced blood products. *Blood* 2003; 101(10): 4195—41200. DOI: 10.1182/BLOOD-2002-10-3143.
43. Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C et al. Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42(4):227—240. DOI: 10.1038/bmt.2008.162.
44. Jakharia N, Howard D, Riedel DJ. CMV infection in hematopoietic stem cell transplantation: prevention and treatment strategies. *Curr Treat Options Infect Dis* 2021; 13(3):123—140. DOI: 10.1007/s40506-021-00253-w.
45. Solano C, Giménez E, Picana JL et al. When should preemptive antiviral therapy for active CMV infection be withdrawn from allogeneic stem cell transplant recipients? *Bone Marrow Transplant* 2017; 52(10):1448—1451. DOI: 10.1038/bmt.2017.109.
46. Martín-Gandul C, Pérez-Romero P, Sánchez M et al. Determination, validation and standardization of a CMV DNA cut-off value in plasma for preemptive treatment of CMV infection in solid organ transplant recipients at lower risk for CMV infection. *J Clin Virol* 2013; 56(1):13—18. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.09.017.
47. Green ML, Leisenring W, Stachel D et al. Efficacy of a viral load-based, risk-adapted, preemptive treatment strategy for prevention of cytomegalovirus disease after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(11):1687—1699. DOI: 10.1016/J.BBMT.2012.05.015.
48. Demin MV, Tikhomirov DS, Biderman BV et al. Mutations in the cytomegalovirus UL97 gene associated with ganciclovir resistance in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants. *Clin Microbiol Antimicrob Chemother* 2019; 21(4):352—357. DOI: 10.36488/CMAC.2019.4.352-357.
49. Демин М. В., Тихомиров Д. С., Бидерман Б. В. и др. Мутации в гене фосфотрансферазы цитомегаловируса, вызывающие устойчивость к ганцикловиру, у пациентов с иммунодефицитом. *Вестник гематологии* 2020; 16(3): 1—2.
50. Papanicolaou GA, Silveira FP, Langston AA et al. Maribavir for refractory or resistant cytomegalovirus infections in hematopoietic-cell or solid-organ transplant recipients: a randomized, dose-ranging, double-blind, phase 2 study. *Clin Infect Dis* 2019; 68(8):1255—1264. DOI: 10.1093/CID/CIY706.
51. Liu J, Kong J, Chang YJ et al. Patients with refractory cytomegalovirus (CMV) infection following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation are at high risk for CMV disease and non-relapse mortality. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21(12):1121.e9—1121.e15. DOI: 10.1016/J.CMI.2015.06.009.
52. Grefte A, van der Giessen M, van Son W, The TH. Circulating cytomegalovirus (CMV)-infected endothelial cells in patients with an active CMV infection. *J Infect Dis* 1993; 167(2):270—277. DOI: 10.1093/INFDIS/167.2.270.

53. Lönnqvist B, Ringdegn O, Ljungman P et al. Reduced risk of recurrent leukaemia in bone marrow transplant recipients after cytomegalovirus infection. *Br J Haematol* 1986; 63(4):671—679. DOI: 10.1111/J.1365-2141.1986.TB07551.X.
54. Behrendt C, Rosenthal J, Bolotin E et al. Donor and recipient CMV serostatus and outcome of pediatric allogeneic HSCT for acute leukemia in the era of CMV-preemptive therapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15(1):54—60. DOI: 10.1016/J.BBMT.2008.10.023.
55. Ito S, Pophali P, Wu CO et al. CMV reactivation is associated with a lower incidence of relapse after allo-SCT for CML. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48(10): 1313—1316. DOI: 10.1038/bmt.2013.49.
56. Yoon JH, Lee S, Kim HJ et al. Impact of cytomegalovirus reactivation on relapse and survival in patients with acute leukemia who received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in first remission. *Oncotarget* 2016; 7(13):17230—17241. DOI: 10.18632/ONCOTARGET.7347.
57. Elmaagacli AH, Koldehoff M. Cytomegalovirus replication reduces the relapse incidence in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2016; 128(3):456—459. DOI: 10.1182/BLOOD-2016-04-713644.
58. Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2010; 116(14):2411—2419. DOI: 10.1182/blood-2010-05-283051.
59. Scheper W, van Dorp S, Kersting S et al. $\gamma\delta$ T cells elicited by CMV reactivation after allo-SCT cross-recognize CMV and leukemia. *Leukemia* 2013; 27(6): 1328—1338. DOI: 10.1038/leu.2012.374.
60. Zhang YL, Zhu Y, Xiao Q et al. Cytomegalovirus infection is associated with AML relapse after allo-HSCT: a meta-analysis of observational studies. *Ann Hematol* 2019; 98(4):1009—1020. DOI: 10.1007/S00277-018-3585-1.
61. Solano C, Vázquez L, Giménez E et al. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients developing cytomegalovirus DNAemia prior to engraftment. *Bone Marrow Transplant* 2020; 56(6):1281—1290. DOI: 10.1038/s41409-020-01157-x.
62. Jeljeli M, Guérin-El Khourouj V, Porcher R et al. Relationship between cytomegalovirus (CMV) reactivation, CMV-driven immunity, overall immune recovery and graft-versus-leukaemia effect in children. *Br J Haematol* 2014; 166(2): 229—239. DOI: 10.1111/bjh.12875.
63. Jang J, Kim S, Cheong J et al. Early CMV replication and subsequent chronic GVHD have a significant anti-leukemic effect after allogeneic HSCT in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2015; 94(2):275—282. DOI: 10.1007/S00277-014-2190-1.
64. Ozdemir ZN, Civriz Bozdağ S. Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Apher Sci* 2018; 57(2):163—167. DOI: 10.1016/J.TRANSFUS.2018.04.014.
65. Hutt D. Engraftment, graft failure, and rejection. In: Kenyon M, Babic M (editors). *The European blood and marrow transplantation textbook for nurses*. Cham (CH): Springer; 2018. P. 259—270. DOI: 10.1007/978-3-319-50026-3_13.

66. Locatelli F, Lucarelli B, Merli P. Current and future approaches to treat graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Pharmacother* 2014; 15(1):23–36. DOI: 10.1517/14656566.2014.852537.
67. Solano C, Giménez E, Albert E et al. Pre-engraftment cytomegalovirus DNAemia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: incidence, risk factors, and clinical outcomes. *Bone Marrow Transplant* 2019; 54(1):90–98. DOI: 10.1038/s41409-018-0251-0.
68. Bunchorntavakul C, Reddy KR. Epstein–Barr virus and cytomegalovirus infections of the liver. *Gastroenterol Clin North Am* 2020; 49(2):331–346. DOI: 10.1016/j.gtc.2020.01.008.
69. O’Grady J, Sutherland S, Harvey F et al. Cytomegalovirus infection and donor/recipient HLA antigens: interdependent co-factors in pathogenesis of vanishing bileduct syndrome after liver transplantation. *Lancet* 1988; 332(8606): 302–305. DOI: 10.1016/S0140-6736(88)92356-2.
70. Romero FA, Razonable RR. Infections in liver transplant recipients. *World J Hepatol* 2011; 3(4):83–92. DOI: 10.4254/WJH.V3.I4.83.
71. Gatault P, Halimi JM, Forconi C et al. CMV infection in the donor and increased kidney graft loss: impact of full HLA-I mismatch and posttransplantation CD8+ cell reduction. *Am J Transplant* 2013; 13(8):2119–2129. DOI: 10.1111/ajt.12298.
72. Razonable RR, Rivero A, Rodriguez A et al. Allograft rejection predicts the occurrence of late-onset cytomegalovirus (CMV) disease among CMV-mismatched solid organ transplant patients receiving prophylaxis with oral ganciclovir. *J Infect Dis* 2001; 184(11):1461–1464. DOI: 10.1086/324516.
73. van Ree RM, de Vries AP, Zelle DM et al. Latent cytomegalovirus infection is an independent risk factor for late graft failure in renal transplant recipients. *Med Sci Monit* 2011; 17(11):CR609–CR617. DOI: 10.12659/MSM.882045.
74. Solano C, de la Cámara R, Vázquez L et al. Cytomegalovirus infection management in allogeneic stem cell transplant recipients: a national survey in Spain. *J Clin Microbiol* 2015; 53(8):2741–2744. DOI: 10.1128/JCM.01057-15.

И. С. Сайдуллаева, Т. А. Туполева, Г. А. Клясова,
Д. С. Тихомиров, М. Ю. Дроков

Глава 22.

Инфекция, вызванная вирусом герпеса человека 6-го типа у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Введение

В 1986 г. Salahuddin et al. впервые обнаружили вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) у взрослых пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями и инфекцией, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Новый вирус назвали В-лимфотропным вирусом человека (HBLV — human B-lymphotropic virus) [1]. Однако через два года тот же возбудитель был выделен Yamanishi et al. из крови четырех младенцев с врожденной розеолой [2]. Позже выяснилось, что этот вирус тропен к Т-лимфоцитам, в связи с этим его первоначальное название было изменено на ВГЧ-6 [3, 4].

До 2012 г. ВГЧ-6 считался одним видом, однако, ввиду различий по клеточному тропизму *in vitro*, рестрикционному эндонуклеазному профилю, нуклеотидной последовательности, реактивности с моноклональными антителами и связи с различными заболеваниями, было выделено два самостоятельных вида: вирус герпеса человека 6А (ВГЧ-6А) и вирус герпеса человека 6В (ВГЧ-6В) [5, 6].

ВГЧ-6А и ВГЧ-6В относятся к роду розеоловирусов, подсемейству *Betaherpesvirinae* [7].

Вирионы ВГЧ-6 состоят из нуклеокапсиды икосаэдрической формы, окруженной аморфным тегументом и липидной оболочкой с глико-

протеинами. Диаметр капсида составляет около 200 нм. Геном вирусов представлен двуцепочечной ДНК длиной около 180 тысяч нуклеотидов [8].

ВГЧ-6А и ВГЧ-6В наиболее близки к вирусу герпеса человека 7-го типа (ВГЧ-7), но некоторые аминокислотные последовательности сходны и с цитомегаловирусом (ЦМВ) [9]. Репликативный цикл занимает четыре-пять дней.

Для проникновения в клетку вирусы используют несколько отличающиеся рецепторы. Так, ВГЧ-6В использует рецептор CD134, также известный как OX40 (член суперсемейства рецептора фактора некроза опухоли, который экспрессируется на активированных Т-лимфоцитах) [10]. Основным рецептором для ВГЧ-6А является CD46, который присутствует на всех ядросодержащих клетках человека [11].

ВГЧ-6А/В способны к переходу в латентную форму в CD4+, CD8+ Т-лимфоцитах, NK-клетках, моноцитах, эндотелиальных клетках почечных канальцев, слюнных желез, бронхиальных железах и ткани центральной нервной системы (ЦНС) [12–15].

Как правило, первичное инфицирование вирусом протекает в виде внезапной экзантемы (*roseola infantum*, шестая болезнь) в первые два года жизни с пиком заболеваемости от 6 до 12 месяцев [16, 17]. В то же время спектр клинических проявлений достаточно широк. Описаны случаи развития фульминантного миокардита у иммунокомпетентных пациентов [18], острого гепатита [19], аутоиммунных заболеваний щитовидной железы [20], синдрома индуцированной лекарственными препаратами гиперчувствительности [21], синдрома Стивенса—Джонсона [22], рассеянного склероза [23, 24]. В работах отечественных авторов была доказана этиологическая роль ВГЧ-6 в развитии инфекционного мононуклеоза у детей, при этом в половине случаев в сочетании с другими инфекционными агентами [25, 26].

Также отмечена связь между клиническими проявлениями и видом вируса. Так, с ВГЧ-6А связывают развитие синдрома хронической усталости, энцефалита, а с ВГЧ-6В —внезапной экзантемы, мононуклеозоподобного синдрома [27].

Большинство первичных инфекций, вызванных ВГЧ-6, у иммунокомпетентных лиц доброкачественны и заканчиваются спонтанным выздоровлением [28]. Установлено, что большинство регистрируемых заболеваний ассоциировано с ВГЧ-6В [16].

ВГЧ-6 может являться одной из причин развития тяжелых форм воспалительной патологии роговицы, а также послеоперационных осложнений при кератопластике. Заболевания глаз, ассоциированные с ВГЧ-6, составляют от 1% до 4% среди больных с увеитами и достига-

ют 64% при кератитах. Наличие ДНК ВГЧ-6 в роговице донора ухудшает результаты кератопластики высокого риска [29, 30].

Среди реципиентов солидных органов, например печени, чаще выявляется ВГЧ-6В, который может привести как к дисфункции трансплантата, так и к развитию лихорадки, сыпи, пневмонии, энцефалита, синтициального гигантоклеточного гепатита [31–33].

Растет число доказательств, что более значимое влияние реактивации ВГЧ-6 на результаты трансплантации печени, а также почек может быть косвенно связано со взаимодействием с другим герпесвирусом — ЦМВ, о чем свидетельствует повышенная предрасположенность к оппортунистическим инфекциям [32–35].

В настоящее время изучение ВГЧ-6А/В в трансплантологии стало актуальной задачей в связи с накоплением данных об их возможном влиянии на результаты алло-ТГСК, об их роли в патогенезе посттрансплантационных осложнений, улучшении методов их диагностики, профилактики и лечения.

Во время острой ВГЧ-6-инфекции геном вируса может присутствовать в виде трех форм: кольцевой в составе вириона, в виде эписомы в ядре и конкатемеров — линейных форм ДНК, образованных во время репликации возбудителя [36, 37].

Эпидемиология и пути передачи вируса герпеса человека 6-го типа

ВГЧ-6А и ВГЧ-6В являются убиквитарными вирусами, то есть характеризуются повсеместным распространением. Более 90% взрослого населения инфицировано ВГЧ-6В. Группой исследователей из Санкт-Петербурга в 2016 г. было проведено многоцентровое исследование с целью определения варианта возбудителя ВГЧ-6-инфекции, на территории Российской Федерации, в котором было показано абсолютное превалирование ВГЧ-6В [38]. Частота инфицирования ВГЧ-6А изучена недостаточно [5].

Вирус может передаваться не только воздушно-капельным путем, но также через вертикальный и половой пути заражения [39]. Источником инфекции являются больные и вирусоносители, а средний инкубационный период продолжается 9–10 дней [40].

Исследования показали, что от 60% до 96% здоровых взрослых имеют антитела к этому вирусу. Противовирусные антитела выявляются у 80% здоровых доноров, у 65% ВИЧ-инфицированных и 73% онкологических больных, а также у большинства новорожденных, за счет передачи материнских антител трансплацентарно. Несмотря

на то что титр антител у новорожденных снижается к пятому месяцу жизни, уже к году они достигают уровня, сравнимого с более старшими детьми и взрослыми благодаря развитию адаптивного иммунитета [27, 39].

Для инфекции, вызванной ВГЧ-6, в основном характерна спорадическая заболеваемость. Однако регистрируются и вспышки заболевания в детских коллективах [41]. Развитие инфекции, вызванной ВГЧ-6, происходит у 30—70% пациентов после алло-ТГСК [42].

Вирус герпеса человека 6-го типа и хромосомная интеграция

ВГЧ-6А и ВГЧ-6В являются уникальными среди всех представителей семейства *Herpesviridae*, патогенных для человека, так как они способны интегрироваться в теломерные участки хромосом клетки-хозяина как *in vivo*, так и *in vitro*. Такая форма называется хромосомно-интегрированной формой ВГЧ-6 (хиВГЧ-6). Это происходит за счет особенностей организации генома ВГЧ-6 посредством гомологичной рекомбинации с хромосомами инфицированной клетки. При этом, в отличие от других представителей вирусного семейства *Herpesviridae*, именно этот механизм чаще всего используется вирусом при становлении латентной фазы инфекции. Процесс не сайтоспецифичен и может произойти после первичного инфицирования, и тогда геном вируса будет встроен в определенный пул соматических клеток. Однако если произойдетстройка вирусного генома в половые клетки, то при слиянии гамет в процессе эмбриогенеза может произойти передача и вирусного генома. У такого зародыша, а впоследствии организма, геном ВГЧ-6 будет содержаться во всех соматических клетках. В таком случае речь идет о наследуемом хромосомно-интегрированном ВГЧ-6 (нхиВГЧ-6) [43].

Распространенность нхиВГЧ-6 у людей варьирует от 0,6% до 2%, в зависимости от географического региона [44, 45].

В настоящее время интеграция генома ВГЧ-6 идентифицирована в теломере X-хромосомы и 11 аутосомных хромосом: 1, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 19, 22. Среди населения европейских стран доминировала интеграция в 17p, а среди стран Азии — в 22p [46].

Клинические последствия хиВГЧ-6А/В еще не полностью изучены. Интеграция в область теломер может нанести вред клетке-хозяину. Так, например, она может привести к укорочению теломер или способствовать неправильной идентификации хромосомного конца [47].

Диагностика такого состояния затруднена из-за необходимости проведения дифференциальной диагностики с активной ВГЧ-6А/В-инфекцией. В случае нхи-ВГЧ-6А/В результаты исследования на наличие вирусной ДНК, например методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), всегда будут показывать высокую вирусную нагрузку, что может трактоваться как активная вирусная репликация, и этот факт требует особых подходов к диагностике и интерпретации результатов.

Первый случай лабораторного выявления нхиВГЧ-6А и нхиВГЧ-6В в РФ был зарегистрирован в ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора. Лабораторно была подтверждена наследственная передача хи-ВГЧ-6А в трех поколениях, а также проведено полногеномное секвенирование двух клинических изолятов хиВГЧ-6А с использованием технологии коротких прочтений [44, 48]. У 6 из 1909 (0,3%) пациентов ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с вирусемией ВГЧ-6 была заподозрена нхиВГЧ-6. Исследование ногтевых пластин и волосяных фолликулов подтвердило у них наличие нхиВГЧ-6 [49].

В настоящее время нет определенного ответа о значимости нхиВГЧ-6 для здоровья человека, но некоторые исследования показали возможность активации вируса при различных инфекциях, приеме лекарственных средств, суперинфекции экзогенным вирусом у пациентов с нхиВГЧ-6. На текущий момент нет однозначных надежных данных о развитии генетических аномалий или аутоиммунных заболеваний, связанных с нхиВГЧ-6, но такая возможность теоретически существует [37].

Исследователями из Тюбингенского университета (Германия) был проведен ретроспективный анализ историй болезни 689 пациентов, которым была выполнена трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в период с января 2015 г. по декабрь 2018 г. У 4 из 89 случаев ВГЧ-6 (4,5% положительных случаев, 0,6% от всех 689 человек) был установлен хиВГЧ-6 (количество ДНК ВГЧ-6 методом ПЦР составило от 2×10^5 до $2,5 \times 10^5$ копий на 1 мл крови). Из 4 случаев хиВГЧ-6 серийные исследования вирусной нагрузки до и после трансплантации показали, что в 2 случаях источником хиВГЧ-6 были реципиенты, а в 2 — доноры. Конечно, такое небольшое количество случаев хиВГЧ-6 не позволяет сделать вывод о том, насколько часто хиВГЧ-6 передается от донора. Исследователи предлагают проводить исследование на хиВГЧ-6 как у пациентов, так и у доноров до выполнения алло-ТГСК с целью облегчения принятия решений о противовирусном лечении в дальнейшем [50].

Критерии диагностики инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6-го типа

Согласно рекомендациям, представленным на Европейской конференции 2017 г. по лечению инфекции, вызванной ВГЧ-6, у пациентов с гематологическими заболеваниями после алло-ТГСК, выделены три формы инфекции [12].

Первичную ВГЧ-6-инфекцию констатируют в случае выявления вируса у человека без признаков предыдущей инфекции. Обычно в ответ на инфекцию вырабатываются антитела, но у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) с тяжелым иммунодефицитом они могут отсутствовать.

Реактивация ВГЧ-6 — обнаружение ДНК ВГЧ-6 у лиц с предшествующим анамнезом такой инфекции. Различают реактивацию эндогенного (латентного) вируса и повторное инфицирование (экзогенно).

Болезнь, вызванная ВГЧ-6 — обнаружение ДНК ВГЧ-6 в пораженном органе и/или образцах биологических жидкостей [жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), спинномозговая жидкость] при наличии симптомов и/или признаков поражения органа.

Для ВГЧ-6 отсутствуют понятия вероятной и доказанной инфекции.

При подозрении на первичную или рецидивирующую инфекцию следует исключить нхиВГЧ-6.

Для нхиВГЧ-6 характерны высокие концентрации вирусной ДНК в цельной крови, эквивалентные по меньшей мере 1 копии геном-эквивалент (копии)/лейкоцит.

Для лабораторной диагностики инфекции, вызванной ВГЧ-6, используют вирусологические (выделение вируса на чувствительных культурах клеток), молекулярно-биологические (выявление нуклеиновых кислот вируса с помощью ПЦР) и иммунохимические [выявление вирусных антигенов с помощью реакции иммунофлюоресценции (РИФ) и специфических антител в крови пациента с помощью РИФ и иммуноферментного анализа (ИФА)] методы [27].

Серологическая диагностика, как правило, осуществляется методом ИФА. Сочетание наличия/отсутствия иммуноглобулинов М (IgM) и иммуноглобулинов G (IgG) позволяет предположить фазу инфекции. Недостатком этого метода является то, что возможны перекрестные реакции между антителами к ВГЧ-6А, ВГЧ-6В, ВГЧ-7.

Чаще лабораторная диагностика инфекции, вызванной ВГЧ-6, опирается на молекулярно-биологические методы исследования, как правило на ПЦР с детекцией продуктов реакции в режиме реального

времени. В этом случае в качестве вирусной мишени выступает участок вирусной ДНК.

Мононуклеарные клетки могут использоваться для культивирования ВГЧ-6А/В. С целью дифференцировки вирусов, а также для обнаружения их в тканях могут быть использованы моноклональные антитела к специфичным антигенам и поликлональные антитела к продукту гена *U90* ВГЧ-6, но эти методы являются достаточно сложными и дорогими в использовании [51].

Обнаружение ДНК ВГЧ-6 в крови говорит о репликации вируса, но у людей с нхиВГЧ-6 в латентной форме постоянно обнаруживается высокая концентрация вируса в цельной крови, плазме, спинномозговой жидкости, биоптатах тканей и др. ДНК ВГЧ-6 присутствует в волосяных фолликулах и ногтевых пластинах исключительно у людей с нхиВГЧ-6А [52, 53].

Реактивация ВГЧ-6 у иммунокомпрометированных людей (реципиенты алло-ТГСК, пациенты после трансплантации солидных органов, ВИЧ-инфицированные пациенты и проч.) может вызвать различные клинические проявления, включая лихорадку, сыпь, тромбоцитопению, энцефалит, пневмонию, гепатит, миокардит, реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ), реактивацию ЦМВ-инфекции [12]. Также выявлена корреляционная связь между реактивацией ВГЧ-6 в сочетании с ЦМВ и сроками восстановления лейкопоза после алло-ТГСК [54].

Реактивация ВГЧ-6 в раннем посттрансплантационном периоде, особенно в сочетании с ЦМВ-инфекцией, может приводить к повреждению эндотелия сосудов, повышая уровень тромбомодулина (ТМ) и ингибитора активатора плазминогена типа 1 (РАИ-1), и играть роль в патогенезе тромботической микроангиопатии [70].

В литературе описан случай развития миелита, ассоциированного с ВГЧ-6, после проведения CD-19 CAR Т-клеточной терапии [55].

Зарегистрированы случаи реактивации ВГЧ-6 на фоне новой коронавирусной инфекции COVID-19 [56]. Показано, что у пациентов с COVID-19 значительно увеличивается экспрессия OX40 на CD4+ Т-клетках, который является специфичным рецептором для проникновения в клетку для ВГЧ-6В [57].

При серологической диагностике следует принимать во внимание тот факт, что, хотя появление IgM к ВГЧ-6 обычно связывается с острой инфекцией, их продукция не всегда может отмечаться у детей при первичном инфицировании и, с другой стороны, эти антитела выявляются примерно у 5% здоровых взрослых лиц, что может быть объяснено бессимптомной формой инфекции. Кроме того, возможно выявление перекрестно реагирующих антител к другим герпесвирусам,

особенно к ВГЧ-7 [27]. Все это указывает на низкую специфичность серологических данных при инфекции, вызванной ВГЧ-6.

Takano et al. провели сравнительный анализ обнаружения ДНК ВГЧ-6 в плазме и цельной крови. В общей сложности был собран 721 образец от 68 реципиентов алло-ТГСК. В связи с частыми ложноположительными результатами (вероятно, вследствие способности ВГЧ-6 переходить в латентную фазу в моноклеарных клетках периферической крови) при исследовании цельной крови исследователи рекомендуют использовать плазму для мониторинга ДНК ВГЧ-6 с целью контроля противовирусной терапии [58].

Ogata et al. проанализировали кинетику и клиническое значение выделения ДНК ВГЧ-6 в слюне после алло-ТГСК [59]. Авторы оценивали количество вирусной ДНК в последовательно собранных образцах плазмы и слюны у реципиентов алло-ТГСК до 70-го дня после трансплантации. Была проанализирована связь между обнаружением ДНК ВГЧ-6 и развитием энцефалита, депрессивного расстройства и РТПХ с поражением слизистой полости рта. Образцы плазмы собирали рутинно 1—2 раза в неделю, а слюну регулярно один раз в неделю. Далее проводили ПЦР в реальном времени. Предел обнаружения ДНК ВГЧ-6 составлял примерно 50 копий/мл. В исследование было включено 56 реципиентов алло-ТГСК. В общей сложности было проанализировано 787 образцов плазмы и 434 образца слюны. Кумулятивная частота выявления ДНК ВГЧ-6 в плазме и слюне через 60 дней после трансплантации составила 51,8% и 83,9% соответственно. Пиковый уровень концентрации ДНК ВГЧ-6 в слюне был значительно выше у пациентов, у которых репликация ДНК ВГЧ-6 была обнаружена и в плазме (медиана, 51 584 копии против 587 копий; $p < 0001$). Уровни ДНК ВГЧ-6 в слюне увеличились после появления ДНК ВГЧ-6 в плазме и оставались высокими в течение периода наблюдения. Несмотря на частое выявление ДНК ВГЧ-6 в слюне, ни у одного пациента не развилась депрессия. Репликация ВГЧ-6 в слюне не была достоверно связана с развитием энцефалита и РТПХ с поражением слизистой оболочки полости рта.

Факторы риска реактивации вируса герпеса человека 6-го типа

Зарубежными и отечественными авторами выделен ряд факторов, способствующих реактивации ВГЧ-6А/В:

- использование пуповинной крови в качестве источника стволовых клеток [60—63];

- алло-ТГСК от гаплоидентичного донора [64];
- алло-ТГСК от неродственного донора [61];
- возраст < 45 лет [61];
- использование миелоаблативного режима кондиционирования [63];
- применение глюкокортикостероидов после алло-ТГСК [65];
- применение таргетных иммунных препаратов (анти-CD3 моноклональных антител) [66];
- синдром приживления [67];
- высокое соотношение CD134/CD4 до начала предтрансплантационного кондиционирования [68].

Hentrich et al. показали, что реактивация ВГЧ-6 у реципиентов алло-ТГСК может быть ассоциирована с алло-ТГСК от неродственного донора, острой РТПХ, коинфекцией вирусом Эпштейна—Барр [69].

Осложнения, ассоциированные с инфекцией, вызванной вирусом герпеса человека 6-го типа, у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Повреждение слизистых оболочек

Мукозит ротовой полости представляет собой воспалительный процесс слизистой оболочки, который часто возникает после высокодозной полихимиотерапии и алло-ТГСК. Это состояние может проявляться различными клиническими симптомами, включая гиперемию, боль, отек, кровотечение десен, нарушение чувствительности и вкуса, язвенные изменения, кровотечения, гиперсаливацию.

Слюна представляет собой сложную смесь секретов слюнных желез, микроорганизмов, эпителиальных клеток, лейкоцитов, эритроцитов и остатков пищи. При латентной форме инфекции ВГЧ-6 способен депонироваться в слюнных железах. Основным источником лейкоцитов для слюны является десневая щелевая жидкость. Таким образом, слюна может являться естественным резервуаром ВГЧ-6, что было продемонстрировано в исследовании на 28 здоровых донорах крови, проведенном Pereira et al. У всех доноров были взяты образцы слюны, секрета околоушной железы и десневой щелевой жидкости, а также периферической крови. При проведении осмотра у доноров отсутствовали заболевания и повреждения ротовой полости. Репликация ВГЧ-6 была выявлена у 20 исследуемых (71%) в 19 образцах (67,8%) слюны, 4 образцах (14%) десневой щелевой жидкости и 4 образцах секрета около-

ушной железы (14%) [71]. Также Pereira et al. показали, что пациенты с хронической РТПХ с поражением слизистой ротовой полости и здоровые люди имеют одинаково высокую частоту встречаемости ВГЧ-6 в крови и слюне [72].

О том, что слюнные железы являются естественным резервуаром для ВГЧ-6, необходимо обязательно помнить при назначении противовирусной терапии на основании данных ПЦР-исследования слюны, так как ВГЧ-6 в данном случае не обязательно ассоциирован с развитием активной инфекции.

Развитие РТПХ

Успешное и устойчивое восстановление CD4+ Т-клеток ассоциируется с улучшением показателей общей выживаемости после алло-ТГСК. Однако оппортунистические инфекции, в том числе ВГЧ-6-инфекция, могут негативно влиять на время и степень восстановления иммунитета [73].

CD4+ Т-клетки и моноциты являются основными мишенями ВГЧ-6. В исследовании, проведенном Yasukawa et al., было подтверждено, что ВГЧ-6 делает CD4+ Т-лимфоциты восприимчивыми к апоптозу [74].

Различные иммуномодулирующие эффекты, по-видимому, опосредованы участием CD46+ (члена регулятора семейства белков активации комплемента). Экспрессируемый на всех ядерных клетках человека, он предотвращает спонтанную активацию комплемента на аутологичных клетках [74]. ВГЧ-6 резко снижает экспрессию CD46 и активность Т-клеток и модулирует экспрессию и экскрецию цитокинов и хемокинов (фактора некроза опухоли альфа, интерлейкина-10, интерферона альфа), чтобы создать благоприятную среду для своего выживания и латентного состояния на протяжении всей жизни пациента [75].

CD134 является иммуномодулирующей молекулой, которая блокирует активность естественных регуляторных Т-клеток (Treg) и подавляет генерацию адаптивных регуляторных Т-клеток [76]. Также считается, что CD134 играет важную роль в развитии острой РТПХ у реципиентов алло-ТГСК [77, 78].

Раннее воздействие на восстанавливающуюся иммунную систему большого количества антигена ВГЧ-6 после алло-ТГСК и иммуномодулирующие эффекты ВГЧ-6 в это время могут значительно повлиять на восстановление иммунной системы. В раннем периоде после алло-ТГСК, когда происходит реактивация ВГЧ-6, большинство реагирующих Т-клеток будут периферическими пролиферирующими Т-клетками. Это может привести не только к специфическим иммун-

ным реакциям, но и из-за провоспалительной среды также к прямой или косвенной пролиферации и активации аллореактивных клонов Т-клеток [79].

ВГЧ-6 вызывает переключение Т-хелперов (Th) с Th1- на Th2-профиль, что приводит к увеличению продукции интерлейкина-10 и угнетению интерлейкина-12. Дополнительно ВГЧ-6А снижает экспрессию человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) класса I в дендритных клетках. Он также может подавлять рост и дифференциацию костномозговых клеток-предшественниц, что может сказаться на развитии макрофагов и тимоцитов [80].

Appleton et al. обнаружили причинно-следственную связь между реактивацией ВГЧ-6 и возникновением РТПХ. Инфекция, вызванная ВГЧ-6, проявлялась появлением кожных высыпаний. ДНК ВГЧ-6 обнаруживалась в биоптатах кожи и/или прямой кишки чаще у реципиентов алло-ТГСК с тяжелой РТПХ (92%), чем у реципиентов с умеренной (55%) или легкой степенью РТПХ (22%). Этот факт позволил предположить, что наличие ДНК ВГЧ-6 в коже или прямой кишке может быть фактором, характеризующим тяжесть РТПХ [81].

Было проведено ретроспективное исследование, включающее 414 пациентов после алло-ТГСК [61]. Клиническими признаками, побуждающими к проведению ПЦР-исследования на ВГЧ-6, были: сыпь с лихорадкой, диарея, нарушения функции печени, неврологические симптомы и пневмония. Среди 365 пациентов, прошедших исследование на выявление ДНК ВГЧ-6, у 239 развилась острая РТПХ (65,5%) и у 100 пациентов произошла реактивация ВГЧ-6 (с 89-го до 120-го дня). У 69 инфицированных пациентов развилась острая РТПХ (с 64-го по 120-й день после трансплантации). Возникновение острой РТПХ существенно не различалось между пациентами с ВГЧ-6-инфекцией и без нее (69,0% против 64,2%; $p = 0,38$), однако у первых наблюдалась более тяжелая степень РТПХ ($p = 0,03$) [61].

Исследователями из Японии (Gotoh et al.) было показано, что реактивация ВГЧ-6 (≥ 87 копий/мл) через 30 дней после ТГСК является возможным предиктором развития РТПХ II–IV степени после +13-го дня после ТГСК [82].

Использование глюкокортикостероидов для лечения острой РТПХ также может усилить вероятность реактивации ВГЧ-6, что приведет к «эффекту домино» в виде ухудшения течения острой РТПХ (рис. 1).

Ассоциация между приемом глюкокортикостероидов и реактивацией ВГЧ-6 была зафиксирована при алло-ТГСК [65].

Все исследования подтверждают связь между острой РТПХ и реактивацией ВГЧ-6, однако не дают однозначный ответ об их временной взаимосвязи. Изучение роли специфических иммунных реакций, свя-



Рисунок 1. Участие ВГЧ-6 в модели «порочного круга» патогенеза РТПХ.

занных с ВГЧ-6, после алло-ТГСК может предоставить больше информации о связи РТПХ с реактивацией вируса.

Несостоятельность трансплантата

Несостоятельность трансплантата — группа осложнений, которую характеризует двух- или трехростковая цитопения в сочетании с гипоплазией/аплазией костного мозга. Несостоятельность трансплантата является третьей по значимости причиной смерти (1,5—2,5%) пациентов после алло-ТГСК — после инфекционных осложнений (6—13%) и РТПХ (2—6%) и [83].

Imbert-Marcille et al. в одноцентровом проспективном исследовании, включающем 92 реципиента аллогенных и аутологичных ГСК (28 и 64 соответственно), показали, что инфекция, вызванная ВГЧ-6, была связана с несостоятельностью трансплантата независимо от типа донора или источника трансплантата [84].

Исследование Т. В. Антоновой и др. подтвердило прямую связь между реактивацией ЦМВ и ВГЧ-6 и сроками восстановления лейкоцитарного звена кроветворения, приживления трансплантата и его гипофункцией. Методом логистической регрессии было подтверждено влияние реактивации герпесвирусных инфекций на гипофункцию трансплантата и поздние сроки восстановления лейкопоэза. В 72% случаев у пациентов с реактивацией герпесвирусных инфекций развилась несостоятельность трансплантата в раннем посттрансплантационном периоде [54].

Неврологические нарушения

По данным зарубежной литературы, нередким посттрансплантационным осложнением является энцефалит, вызванный ВГЧ-6, в основном связанный с реактивацией вируса после трансплантации. Наиболее характерными клиническими симптомами ВГЧ-6-энцефалита, являются: антероградная амнезия, судороги, бессонница, спутанность сознания.

ния, синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона (синдром Пархона) [85].

К критериям диагностики ВГЧ-6-энцефалита, относятся: неврологическая симптоматика, изменения в спинномозговой жидкости (повышение концентрации белка, плеоцитоз), обнаружение ДНК ВГЧ-6 в спинномозговой жидкости методом ПЦР, исключение других этиологических причин. Однако в некоторых исследованиях было показано, что у пациентов с энцефалитом, вызванным ВГЧ-6, может не быть изменений в анализе ликвора и ДНК ВГЧ-6 может не обнаруживаться, что в свою очередь значительно затрудняет диагностику. Также усложняет диагностику наличие нхВГЧ-6, что обуславливает положительные результаты ПЦР-исследования при отсутствии неврологической симптоматики. Описанную ситуацию можно заподозрить по следующим признакам: стабильно высокая вирусная нагрузка (10^6 — 10^7 копий/мл в цельной крови) при отсутствии явной инфекционной симптоматики, отсутствие отрицательных результатов исследования на ДНК ВГЧ-6 различного клинического материала пациента.

Прогноз вирус-ассоциированного энцефалита неблагоприятный, о чем говорит высокая летальность и вероятность тяжелых неврологических осложнений [86]. В обзоре Zerr, посвященном описанию 44 случаев ВГЧ-6-энцефалита, сообщалось о 25-процентной атрибутивной летальности до 28-го дня и общей летальности, равной 39%. Кроме того, 18% пациентов страдали впоследствии затяжными неврологическими нарушениями [87].

В исследовании, проведенном Ogata et al., общая выживаемость на 100-й день после алло-ТГСК среди лиц с энцефалитом, вызванным ВГЧ-6, составила 58,3%, по сравнению с 80% среди пациентов без него. Среди выживших пациентов, завершивших противовирусную терапию, стойкие неврологические осложнения развились у 57%. Наиболее частые среди них — нарушение памяти и височная эпилепсия [59, 86].

Результаты работы Shitoshita et al. свидетельствуют о том, что одним из заболеваний ЦНС, ассоциированных с ВГЧ-6, после алло-ТГСК является миелит, наиболее частые симптомы которого — онемение, зуд, боль в конечностях/спине. Прогноз благоприятный при раннем терапевтическом вмешательстве [88].

Пневмония

По данным литературы, ВГЧ-6 может являться причиной поражения легочной ткани у иммунокомпрометированных пациентов [89—91]. Впервые этиологическая роль ВГЧ-6 в поражении нижних дыхательных путей в посттрансплантационном периоде была показана в работе

Carrigan et al. [91]. В одном из исследований в образцах жидкости БАЛ, собранных у 69 реципиентов ГСК с диагнозом идиопатической пневмонии, ВГЧ-6 был наиболее часто детектируемым или единственным возбудителем, обнаруженным примерно в 50% случаев. Причем обнаружение ВГЧ-6 ассоциировалось с повышенной летальностью [90, 91]. В другом исследовании, включавшем пациентов со злокачественными гематологическими заболеваниями после алло-ТГСК, было показано, что ВГЧ-6 выявлялся в 86% случаев вместе с другими инфекционными агентами [92].

Jouneau et al. предположили, что ПЦР-исследование БАЛ на наличие ДНК ВГЧ-6 следует проводить всем пациентам с острой дыхательной недостаточностью и/или пациентам с необъяснимым симптомом «матового стекла» по данным компьютерной томографии [93].

Поражение желудочно-кишечного тракта

Поскольку диарея является частым симптомом, Amo et al. предположили, что ВГЧ-6 может быть одной из причин поражения желудочно-кишечного тракта у пациентов после алло-ТГСК. У 4 пациентов после алло-ТГСК с тяжелой диареей ДНК ВГЧ-6 была обнаружена в биоптате толстой кишки и в мононуклеарных клетках периферической крови. ДНК ВГЧ-6В была обнаружена методом гибридизации *in situ* в ядрах бокаловидных клеток слизистой оболочки, гистиоцитах в подслизистой основе толстой кишки, что позволило предположить, что ВГЧ-6В может инфицировать эти клетки и переходить в латентную форму. У 50% пациентов ДНК ВГЧ-6 была также обнаружена в плазме крови, а результаты гистологического исследования биоптата толстой кишки указывали на воспаление, а не на РТПХ. В то же время у другой половины пациентов ДНК ВГЧ-6В не была обнаружена в плазме крови, а результаты гистологического исследования биоптата толстой кишки указывали на РТПХ. Авторы рассмотрели возможность существования двух типов диареи, связанной с ВГЧ-6В. Во-первых, ВГЧ-6В может предположительно являться возбудителем диареи, например, у пациентов, у которых детектировали ДНК ВГЧ-6В и в других тканях. Во-вторых, ВГЧ-6В предположительно может являться причиной развития РТПХ, например, у пациентов, у которых была обнаружена ДНК ВГЧ-6В только в толстой кишке. Авторы подчеркнули необходимость исследования большего количества образцов, а также важность обследования иммунокомпрометированных пациентов с диареей на наличие ВГЧ-6 с целью определения причины диареи [94].

В то же время другими исследователями было показано, что основным косвенным эффектом инфекции, вызванной ВГЧ-6, у пациентов после трансплантации солидных органов является увеличение вероят-

ности реактивации и других герпесвирусных инфекций, в частности ЦМВ, а также развития грибковых инфекций [34, 95—97].

Halme et al. выдвинули предположение о связи ВГЧ-6 с осложнениями со стороны желчевыводящей системы. ВГЧ-6-позитивные клетки были детектированы в биоптате желудка у 19% пациентов с диспепсическими симптомами и 23% пациентов после трансплантации печени. Среди реципиентов трансплантата с положительными результатами в биоптате желудка у 74% обнаруживали ДНК ВГЧ-6 и в крови [95].

Геморрагический цистит

Геморрагический цистит — диффузное воспаление мочевого пузыря с кровотечением из слизистой оболочки вследствие повреждения переходного эпителия. Геморрагический цистит является частым осложнением после алло-ТГСК.

Основным фактором риска развития геморрагического цистита после первой недели алло-ТГСК является инфицирование полиомавирусом ВК, в то время как другие вирусы, такие как аденовирус, ЦМВ и ВГЧ-6, этиологическим фактором становятся намного реже [98, 99].

По данным ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (В. А. Васильева и соавт.), геморрагический цистит был диагностирован у 14,6% (39/267) пациентов в сроки от 1 до 139 дней после алло-ТГСК (медиана времени развития 39 дней). У 34,4% пациентов герпес-вирусы были единственным этиологическим фактором (ДНК ЦМВ определялась у 3 больных, ВГЧ-6 — у 5 больных, ЦМВ + ВГЧ-6 — у 3 больных). Медиана длительности от дня диагностики геморрагического цистита до регрессии клинической симптоматики составила 25 дней (от 6 до 133 дней) [100].

Развитие инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6-го типа, в зависимости от типа донора, режима предтрансплантационного кондиционирования и режима профилактики РТПХ

Как уже было сказано выше, алло-ТГСК от гаплоидентичного донора является одним из факторов риска реактивации ВГЧ-6А/В.

Perruccio et al. сообщили о высокой частоте инфекции, вызванной ВГЧ-6, в двух группах пациентов. Все пациенты получили миелоаблативные режимы кондиционирования и 2 различных типа манипуляций с трансплантатом *ex vivo*: селекция CD34+ и инфузия Treg/Tcon

(Т-конвенциональных клеток) ($n = 13$), и CD45RA Т-клеточная деплеция ($n = 25$). Противовирусная профилактика включала ацикловир у 33 и фоскарнет у 5 пациентов. Схемы кондиционирования в когорте «Treg/Tcon» включали тиотепу, 10 мг/кг, флударабин, 50 мг/м²/сут в течение 4 дней, и циклофосфамид, 30 мг/кг/сут в течение 2 дней, у 11 пациентов. Один пациент получал 7,5 мг/кг, а 1 пациент 8 мг/кг тиотепы. Единственный пациент, не получивший тотальное облучение тела, получал треосульфан, 14 г/м²/сут в течение 3 дней, и тимоглобулин, 6 мг/кг/сут в течение 3 дней. Кондиционирование пациентов группы «CD45RA-деплеции» включало тотальное облучение тела / тотальное лимфоидное облучение и тиотепу, 5 мг/кг/сут в течение 2 дней, флударабин, 30 мг/м²/сут в течение 5 дней, и мелфалан, 70 мг/м²/сут в течение 2 дней. У всех пациентов после трансплантации довольно рано была обнаружена ДНК ВГЧ-6, у 9 пациентов (24%) развился симптоматический лимбический энцефалит. Все пациенты ответили на противовирусное лечение, и никто из них не умер от инфекции, хотя у 2 пациентов (22%) наблюдались длительные неврологические нарушения. Более того, у 6 пациентов наблюдалось поражение органов при отсутствии других причин: у 1 — гепатит, у 1 — пневмония, у 2 — гастроэнтерит и у 2 — мультиорганные поражения (у 1 — энцефалит, пневмония и гастрит; у 1 — пневмония и энтерит). Частота других вирусных, бактериальных и грибковых заболеваний была ниже в обеих когортах. *In vitro* было установлено, что ВГЧ-6 инфицирует только CD4+ фракцию трансплантата. Культивирование CD4+ Т-клеток совместно с CD56+ естественными киллерными (NK) клетками позволило уничтожить вирус и подтвердить важную роль NK-клеток в иммунной борьбе против вирусов. В когорте «Treg/Tcon» ВГЧ-6-инфекция развивалась в среднем на +9-й день с медианой вирусной нагрузки 14 155 копий, а в когорте «CD45RA-деплеция» — в среднем на +13-й день. Развитие острой РТПХ с поражением кожи, кишечника, печени было отмечено у одного пациента, и он получил 3 линии иммуносупрессивной терапии (циклоспорин/такролимус, микофенолата мофетил, глюкокортикостероиды, экстракорпоральный фотоферез), и у 2 пациентов развилась несостоятельность трансплантата [64].

Несмотря на высокую частоту (30—70%) возникновения инфекции, вызванной ВГЧ-6, после алло-ТГСК от гаплоидентичного донора, открытым остается вопрос о том, что больше влияет на вероятность развития инфекции: HLA-совместимость донора и реципиента или иммуносупрессия.

Методы профилактики и лечения инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6-го типа

На сегодняшний день не зарегистрировано ни одного препарата исключительно для лечения ВГЧ-6А/В. Стандартизированной терапии инфекции, вызванной ВГЧ-6, также до сих пор не существует.

Пациенты с первичной ВГЧ-6-инфекцией в большинстве случаев не нуждаются в проведении терапии. В качестве лекарственных препаратов для терапии инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В, применяют хорошо известные антицитомегаловирусные препараты, такие как ганцикловир, цидофовир, фоскарнет [101—103]. Из них только ганцикловир официально зарегистрирован для использования на территории Российской Федерации. Стоит также отметить, что показания для начала терапии официально не утверждены. По данным литературы, подходы к лечению различаются в разных трансплантационных центрах в зависимости от клинических проявлений, сопутствующей патологии у пациента.

Согласно рекомендациям, представленным на Европейской конференции 2017 г. по лечению инфекции, вызванной ВГЧ-6, у пациентов с гематологическими заболеваниями, которым была проведена алло-ТГСК, для лечения энцефалита, вызванного ВГЧ-6, используют внутривенное введение фоскарнета или ганцикловира. Выбор препарата определяют побочными эффектами и соматическим статусом пациента. Рекомендуемая доза фоскарнета 180 мг/кг/сут, ганцикловира — 10 мг/кг/сут [12]. Дозы препаратов рассчитывают на фактический вес пациента, однако при значении фактической массы тела >120% от идеальной массы рекомендуют использовать дозу препарата на вес, рассчитанный по калькулятору скорректированного веса тела. При наличии у пациента почечной недостаточности дозы препаратов корректируются по клиренсу креатинина.

Для лечения ВГЧ-6-ассоциированного энцефалита, Zerr et al. рекомендует продолжать противовирусную терапию до тех пор, пока ДНК ВГЧ-6 не будет обнаруживаться в периферической крови методом ПЦР (в среднем не менее 3 недель). Авторы использовали плазменную ДНК ВГЧ-6 для мониторинга реактивации. Если использовать цельную кровь для определения ДНК ВГЧ-6, то продолжительность противовирусной терапии может значительно увеличиться (более 56 дней), что в свою очередь сопряжено с серьезными побочными эффектами, такими как почечная недостаточность, вызванная терапией фоскарнетом, или миелосупрессия вследствие терапии ганцикловиром [105].

Т. И. Лобановой и др. было показано, что ДНК ВГЧ-6 выявляется в большинстве случаев у пациентов с онкогематологическими заболеваниями

ями в период глубокого угнетения иммунитета. В ретроспективном исследовании, проведенном с января 2013 по 2017 г., были проанализированы результаты вирусологического обследования 273 больных из отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) крови была выполнена 25 больным. ДНК ВГЧ-6 обнаружена у 32,9% больных, из них 11 больных после ауто-ТГСК. В ходе исследования было обнаружено, что длительное применение внутривенной формы противовирусного препарата (не менее 1 месяца) и продолжение терапии пероральной формой препарата до полного исчезновения ДНК вируса из биологических жидкостей и улучшения клинического состояния являются важными факторами для эффективной терапии. Вовремя приступая к адекватной противовирусной терапии, можно значительно снизить риск тяжелых осложнений и избежать летальных исходов у таких пациентов [106].

Vittayawacharin et al. (2023 г.) продемонстрировали хорошие результаты терапии инфекции, вызванной ВГЧ-6, коротким курсом фоскарнета в дозе от 60 до 90 мг/кг/сут в течение 7 дней, что позволило значительно снизить побочные эффекты от проводимой терапии [107].

Определение порога начала и критериев прекращения терапии

В настоящее время существует разнообразие точек зрения по таким ключевым вопросам, как пороговые значения нагрузки ДНК ВГЧ-6, при которых следует начинать противовирусную терапию, а также критерии прекращения лечения.

Учитывая токсичность доступных в настоящее время противовирусных препаратов и отсутствие снижения заболеваемости энцефалитом, ассоциированным с ВГЧ-6В, при проведении профилактического лечения ганцикловиром или фоскарнетом не показаны ни рутинное тестирование на ВГЧ-6 в крови, ни профилактическая терапия [12, 104].

Принципы лечения ВГЧ-6-инфекции аналогичны таковым при ЦМВ-инфекции. Назначается ганцикловир, 10 мг/кг/сут в течение 7—14 дней. При резистентном течении возможно назначение фоскарнета, 60 мг/кг 3 раза в сутки. Ацикловир при ВГЧ-6-инфекции неэффективен. Профилактику в отношении ВГЧ-6 не проводят.

Литература

1. Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. Science 1986; 234(4776):596—601. DOI: 10.1126/science.2876520.

2. Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1988; 1(8594):1065—1067. DOI: 10.1016/s0140-6736(88)91893-4.
3. Abdel-Haq NM, Asmar BI. Human herpesvirus 6 (HHV6) infection. *Indian J Pediatr* 2004; 71(1):89—96. DOI: 10.1007/BF02725664.
4. Ablashi DV, Salahuddin SZ, Josephs SF et al. HBLV (or HHV-6) in human cell lines. *Nature* 1987; 329:207. DOI: 10.1038/329207a0.
5. Adams M, Carstens E. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on taxonomy of viruses. *Arch Virol* 2012; 157:1411—1422. DOI: 10.1007/s00705-012-1299-6.
6. Braun D, Dominguez G, Pellett P. Human Herpesvirus 6. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(3):521—567. DOI: 10.1128/CMR.10.3.521.
7. Taxonomic proposals from the Herpesviridae study group // International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). URL: ictv.global/ictv/proposals/2005.020-72.04.Herpes.pdf.
8. King O, Al Khalili Y. Herpes virus type 6. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540998>.
9. Крамарев С. А., Выговская О. В., Евтушенко В. В., Дорошенко В. А. Герпесвирусные инфекции, вызванные герпесвирусами 6, 7 и 8 типов. Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. URL: health-ua.org/faq/infekcionnye-zabolevaniya/2490.html.
10. Tang H, Serada S, Kawabata A et al. CD134 is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(22):9096—9099. DOI: 10.1073/pnas.1305187110.
11. Santoro F, Kennedy PE, Locatelli G et al. CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6. *Cell* 1999; 99(7):817—827. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81678-5.
12. Ward KN, Hill JA, Hubacek P et al. Guidelines from the 2017 European Conference on Infections in Leukaemia for management of HHV-6 infection in patients with hematologic malignancies and after hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2019; 104(11):2155—2163. DOI: 10.3324/haematol.2019.223073.
13. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Update on infections with human herpesviruses 6A, 6B, and 7. *Med Mal Infect* 2017; 47(2):83—91. DOI: 10.1016/j.medmal.2016.09.004.
14. De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(1):217—245. DOI: 10.1128/CMR.18.1.217-245.2005.
15. Krueger GR, Wassermann K, De Clerck LS et al. Latent herpesvirus-6 in salivary and bronchial glands. *Lancet* 1990; 336(8725):1255—1256. DOI: 10.1016/0140-6736(90)92874-h.
16. Hall CB, Long CE, Schnabel KC et al. Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation. *N Engl J Med* 1994; 331(7):432—438. DOI: 10.1056/NEJM199408183310703.
17. Pruksananonda P, Hall CB, Insel RA et al. Primary human herpesvirus 6 infection in young children. *N Engl J Med* 1992; 326:1445—1450 DOI: 10.1056/NEJM199205283262201.

18. Ashrafpoor G, Andréoletti L, Bruneval P et al. Fulminant human herpesvirus 6 myocarditis in an immunocompetent adult: role of cardiac magnetic resonance in a multidisciplinary approach. *Circulation* 2013; 128(23):e445—e447. DOI: 10.1161/circulationaha.113.001801.
19. Charnot-Katsikas A, Baewer D, Cook L, David MZ. Fulminant hepatic failure attributed to infection with human herpesvirus 6 (HHV-6) in an immunocompetent woman: a case report and review of the literature. *J Clin Virol* 2016; 75:27—32. DOI: 10.1016/j.jcv.2015.12.002.
20. Caselli E, Zatelli MC, Rizzo R et al. Virologic and immunologic evidence supporting an association between HHV-6 and Hashimoto's thyroiditis. *PLoS Pathog* 2012; 8(10):e1002951. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002951.
21. Gentile I, Talamo M, Borgia G. Is the drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) due to human herpesvirus 6 infection or to allergy-mediated viral reactivation? Report of a case and literature review. *BMC Infect Dis* 2010; 10:49. DOI: 10.1186/1471-2334-10-49.
22. Peppercorn AF, Miller MB, Fitzgerald D et al. High-level human herpesvirus-6 viremia associated with onset of Stevens-Johnson syndrome: report of two cases. *J Burn Care Res* 2010; 31(2):365—368. DOI: 10.1097/BCR.0b013e3181d0f48b.
23. Lundström W, Gustafsson R. Human herpesvirus 6A is a risk factor for multiple sclerosis. *Front Immunol* 2022; 13:840753. DOI: 10.3389/fimmu.2022.840753.
24. Tao C, Simpson-Yap S, Taylor B et al. Markers of Epstein-Barr virus and human herpesvirus-6 infection and multiple sclerosis clinical progression. *Mult Scler Relat Disord* 2022; 59:103561. DOI: 10.1016/j.msard.2022.103561.
25. Новосад Е. В. Инфекционный мононуклеоз, ассоциированный с вирусом герпеса 6 типа: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2010. 127 с.
26. Демина О. И, Тихомиров Д. С, Чеботарева Т. А. и др. Клиническая значимость вирусологических методов верификации этиологии инфекционного мононуклеоза. *Детские инфекции* 2020; 2:29—37.
27. Потекаев Н. Н., Марданлы С. Г., Фриго Н. В. и др. Серологическая диагностика герпесвирусных инфекций. Методические рекомендации. Орехово-Зуево: ИП Козаченко, 2018. 37 с.
28. Анохин В. А., Сабитова А. М. Инфекции, вызванные вирусами герпеса 6-го типа: современные особенности. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2016; 61(5):127—131. DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-5-127-131.
29. Миронкова Е. А., Демкин В. В, Слепова О. С. и др. Диагностика и роль ВГЧ-6 инфекции при кератопластике высокого риска. *Российский офтальмологический журнал* 2012; 5(3):30—33.
30. Кричевская Г. И. Роль вируса герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6) в общей патологии и при заболеваниях глаз. *Российский офтальмологический журнал* 2016; 9(1):98—104. DOI: 10.21516/2072-0076-2016-9-1-98-104.
31. Ljungman P, Singh N. Human herpesvirus-6 in solid organ and stem cell transplant recipients. *J Clin Virol* 2006; 37(Suppl 1):S87—S91. DOI: 10.1016/S1386-6532(06)70018-X.

32. Razonable RR, Paya CV. The impact of human herpesvirus-6 and -7 infection on the outcome of liver transplantation. *Liver Transpl* 2002; 8(8):651—658. DOI: 10.1053/jlts.2002.34966.
33. Potenza L, Luppi M, Barozzi P et al. HHV-6A in syncytial giant-cell hepatitis. *N Engl J Med* 2008; 359(6):593—602. DOI: 10.1056/NEJMoa074479.
34. Rogers J, Rohal S, Carrigan DR et al. Human herpesvirus-6 in liver transplant recipients: Role in pathogenesis of fungal infections, neurologic complications, and outcome. *Transplantation* 2000; 69:2566—2573. DOI: 10.1097/00007890-200006270-00016.
35. Dockrell DH, Mendez JC, Jones M et al. Human herpesvirus 6 seronegativity before transplantation predicts the occurrence of fungal infection in liver transplant recipients. *Transplantation* 1999; 67:399—403. DOI: 10.1097/00007890-199902150-00010.
36. Morissette G, Flamand L. Herpesviruses and chromosomal integration. *J Virol* 2010; 84(23):12100—1209. DOI: 10.1128/JVI.01169-10.
37. Никольский М. А., Голубцова В. С. Хромосомно-интегрированный вирус герпеса человека 6 типа. *Инфекция и иммунитет* 2015; 5(1):7—14. DOI: 10.15789/2220-7619-2015-1-7-14.
38. Никольский М. А., Вязовая А. А., Ведерников В. Е. и др.. Молекулярно-биологическая характеристика вируса герпеса человека 6-го типа у пациентов с различными вариантами течения заболевания. *Педиатрия* 2019; 98(1):53—56. DOI: 10.24110/0031-403X-2019-98-1-53-56.
39. Tremblay C. Virology, pathogenesis, and epidemiology of human herpesvirus 6 infection. UpToDate; 2016. URL: <https://www.uptodate.com/contents/virology-pathogenesis-and-epidemiology-of-human-herpesvirus-6-infection>.
40. American Academy of Pediatrics. Human herpesvirus 6 (including roseola) and 7. In: Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS (editors). *Red book: 2015 report of the Committee on Infectious Diseases*. 30th ed. Elk Grove Village (IL): American Academy of Pediatrics; 2015. 449 p.
41. Freitas RB, Monteiro TA, Linhares AC. Outbreaks of human-herpes virus 6 (HHV-6) infection in day-care centers in Belém, Pará, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2000; 42:305—311. DOI: 10.1590/s0036-46652000000600002.
42. Wang X, Patel SA, Haddadin M, Cerny J. Post-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation viral reactivations and viremias: a focused review on human herpesvirus-6, BK virus and adenovirus. *Ther Adv Infect Dis* 2021; 8:20499361211018027. DOI: 10.1177/20499361211018027.
43. Caserta MT. Human herpesviruses 6 and 7 (roseola, exanthem subitum). In: Long SS, Prober CG, Fischer M (editors). *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. 5th edition. Philadelphia (PA): Elsevier; 2018. P. 1081—1088. DOI: 10.1016/B978-1-4377-2702-9.00209-9.
44. Домонова Э. А., Сильвейстрова О. Ю., Гоптарь И. А. и др. Первый случай выявления и лабораторного подтверждения наследственной передачи хромосомно-интегрированного Human betaherpesvirus 6A в Российской Федерации. *Инфекционные болезни* 2019; 17(3):5—14. DOI: 10.20953/1729-9225-2019-3-5-14.

45. Flamand L. Chromosomal integration by human herpesviruses 6A and 6B. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1045:209—226. DOI: 10.1007/978-981-10-7230-7_10.
46. Pantry SN, Medveczky PG. Latency, integration, and reactivation of human herpesvirus-6. *Viruses* 2017; 9(7):194. DOI: 10.3390/v9070194.
47. de Pagter PJ, Schuurman R, Meijer E et al. Human herpesvirus type 6 reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Virol* 2008; 43(4):361—366. DOI: 10.1016/j.jcv.2008.08.008.
48. Мелехина Е. В., Домонова Э. А., Гоптарь И. А. и др. Первый в России случай наследственной передачи хромосомно-интегрированного вируса герпеса человека 6В (Human betaherpesvirus 6B). *Вопросы практической педиатрии* 2019; 14(1):33—40. DOI: 10.20953/1817-7646-2019-1-33-40.
49. Солдатова Т. А., Тихомиров Д. С., Крылова А. Ю. и др. Актуальные проблемы диагностики активной инфекции, ассоциированной с вирусом герпеса человека 6, у пациентов гематологического профиля с наследуемой хромосомно-интегрированной формой вируса. *Гематология и трансфузиология* 2023; 68(2):54—55.
50. Berneking L, Both A, Langebrake C et al. Detection of human herpesvirus 6 DNA and chromosomal integration after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective single center analysis. *Transpl Infect Dis* 2022; 24:e13836. DOI: 10.1111/tid.13836.
51. Nishimura N, Yoshikawa T, Ozaki T et al. In vitro and in vivo analysis of human herpesvirus-6 U90 protein expression. *J Med Virol* 2005; 75:86—92. DOI: 10.1002/jmv.20241.
52. Ward KN, Leong HN, Nacheva EP et al. Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles. *J Clin Microbiol* 2006; 44(4):1571—1574. DOI: 10.1128/JCM.44.4.1571-1574.2006.
53. Tanaka-Taya K, Sashihara J, Kurahashi H et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) is transmitted from parent to child in an integrated form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA. *J Med Virol* 2004; 73(3):465—473. DOI: 10.1002/jmv.20113.
54. Антонова Т. В., Ножкин М. С., Побегалова О. Е. и др. Влияние реактивации цитомегаловирусной инфекции и инфекции вируса герпеса человека 6 типа на течение раннего периода после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у онкогематологических пациентов. *Журнал инфектологии* 2022; 14(25):41—50. DOI: 10.22625/2072-6732-2022-14-5-41-50.
55. Handley G, Khawaja F, Kondapi DS et al. Human herpesvirus 6 myelitis after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Int J Infect Dis* 2021; 112:327—329. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.09.061.
56. Hu Y, Chen T, Liu M et al. Positive detection of SARS-CoV-2 combined HSV1 and HHV6B virus nucleic acid in tear and conjunctival secretions of a non-conjunctivitis COVID-19 patient with obstruction of common lacrimal duct. *Acta Ophthalmol* 2020; 98:859—863. DOI: 10.1111/aos.14456.

57. Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D et al. Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients. *Natl Sci Rev* 2020; 7(6):998—1002. DOI: 10.1093/nsr/nwaa041.
58. Takano K, Ogata M, Kawano R et al. Comparison of HHV-6 DNA detection in plasma and whole blood in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: frequent false-positive results for active HHV-6 infection using whole blood samples. *Int J Hematol* 2018; 108(5):535—542. DOI: 10.1007/s12185-018-2498-z.
59. Ogata M, Kawano R, Satou T et al. Kinetics and clinical significance of human herpesvirus 6 DNA shedding in saliva after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2021; 23(3):e13512. DOI: 10.1111/tid.13512.
60. Hill JA, Koo S, Guzman Suarez BB et al. Cord-blood hematopoietic stem cell transplant confers an increased risk for human herpesvirus-6-associated acute limbic encephalitis: a cohort analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(11):1638—1648. DOI: 10.1016/j.bbmt.2012.04.016.
61. Pichereau C, Desseaux K, Janin A et al. The complex relationship between human herpesvirus 6 and acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(1):141—144. DOI: 10.1016/j.bbmt.2011.07.018.
62. Mori Y, Miyamoto T, Nagafuji K et al. High incidence of human herpes virus 6-associated encephalitis/myelitis following a second unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(11):1596—1602. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.05.009.
63. Chevallier P, Hebia-Fellah I, Planche L et al. Human herpes virus 6 infection is a hallmark of cord blood transplant in adults and may participate to delayed engraftment: a comparison with matched unrelated donors as stem cell source. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45(7):1204—1211. DOI: 10.1038/bmt.2009.326.
64. Perruccio K, Sisinni L, Perez-Martinez A et al. High incidence of early human herpesvirus-6 infection in children undergoing haploidentical manipulated stem cell transplantation for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24(12):2549—2557. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.07.033.
65. Ogata M, Kikuchi H, Satou T et al. Human herpesvirus 6 DNA in plasma after allogeneic stem cell transplantation: incidence and clinical significance. *J Infect Dis* 2006; 193(1):68—79. DOI: 10.1086/498531.
66. Zerr DM, Gooley TA, Yeung L et al. Human herpesvirus 6 reactivation and encephalitis in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2001; 33(6):763—771. DOI: 10.1086/322642.
67. Ogata M, Satou T, Kawano R et al. Correlations of HHV-6 viral load and plasma IL-6 concentration with HHV-6 encephalitis in allogeneic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45(1):129—136. DOI: 10.1038/bmt.2009.116.
68. Nakayama H, Yamazaki R, Kato J et al. Human herpesvirus 6 reactivation evaluated by digital polymerase chain reaction and its association with dynamics of CD134-positive T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect Dis* 2019; 220(6):1001—1007. DOI: 10.1093/infdis/jiz237.

69. Hentrich M, Oruzio D, Jäger G et al. Impact of human herpesvirus-6 after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2005; 128(1):66–72. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05254.x.
70. Takatsuka H, Wakae T, Mori A et al. Endothelial damage caused by cytomegalovirus and human herpesvirus-6. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31(6):475–479. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703879.
71. Pereira CM, de Almeida OP, Corrêa ME et al. Detection of human herpesvirus 6 in patients with oral chronic graft-vs-host disease following allogeneic progenitor cell transplantation. *Oral Dis* 2007; 13(3):329–334. DOI: 10.1111/j.1601-0825.2006.01294.x.
72. Phan TL, Pritchett JC, Leifer C et al. HHV-6B infection, T-cell reconstitution, and graft-vs-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53(12):1508–1517. DOI: 10.1038/s41409-018-0225-2.
73. Yasukawa M, Inoue Y, Ohminami H et al. Apoptosis of CD4+ T lymphocytes in human herpesvirus-6 infection. *J Gen Virol* 1998; 79 (Pt 1):143–147. DOI: 10.1099/0022-1317-79-1-143.
74. Lusso P. HHV-6 and the immune system: mechanisms of immunomodulation and viral escape. *J Clin Virol* 2006; 37(Suppl 1):S4–S10. DOI: 10.1016/S1386-6532(06)70004-X.
75. Wang F, Yao K, Yin QZ et al. Human herpesvirus-6-specific interleukin 10-producing CD4+ T cells suppress the CD4+ T-cell response in infected individuals. *Microbiol Immunol* 2006; 50(10):787–803. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2006.tb03855.x.
76. So T, Lee SW, Croft M. Immune regulation and control of regulatory T cells by OX40 and 4-1BB. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19(3–4):253–262. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2008.04.003.
77. Tsukada N, Akiba H, Kobata T et al. Blockade of CD134 (OX40)-CD134L interaction ameliorates lethal acute graft-versus-host disease in a murine model of allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2000; 95(7):2434–2439.
78. Blazar BR, Sharpe AH, Chen AI et al. Ligation of OX40 (CD134) regulates graft-versus-host disease (GVHD) and graft rejection in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Blood* 2003; 101(9):3741–3748. DOI: 10.1182/blood-2002-10-3048.
79. de Pagter PJ, Schuurman R, Meijer E et al. Human herpesvirus type 6 reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Virol* 2008; 43(4):361–366. DOI: 10.1016/j.jcv.2008.08.008.
80. Мелехина Е. В., Музыка А. Д., Калугина М. Ю. и др. Современные представления об инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6 типа. *Архив внутренней медицины* 2016; 1(27):13–19. DOI: 10.20514/2226-6704-2016-6-1-13-19.
81. Appleton AL, Sviland L, Peiris JS et al. Human herpes virus-6 infection in marrow graft recipients: role in pathogenesis of graft-versus-host disease. Newcastle upon Tyne Bone Marrow Transport Group. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16(6):777–782.
82. Gotoh M, Yoshizawa S, Katagiri S et al. Human herpesvirus 6 reactivation on the 30th day after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation can predict

- grade 2-4 acute graft-versus-host disease. *Transpl Infect Dis* 2014; 16(3):440—449. DOI: 10.1111/tid.12229.
83. Масликова У. В., Попова Н. Н., Дроков М. Ю., Хамаганова Е. Г. Несостоятельности трансплантата аллогенных гемопоэтических стволовых клеток: диагностика и лечение. Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, врач и здоровье 2023; 13(1):114—125. DOI: 10.20340/vmi-rvz.2023.1.TX.1.
84. Imbert-Marcille BM, Tang XW, Lepelletier D et al. Human herpesvirus 6 infection after autologous or allogeneic stem cell transplantation: a single-center prospective longitudinal study of 92 patients. *Clin Infect Dis* 2000; 31(4):881—886. DOI: 10.1086/318142.
85. American Academy of Pediatrics. Human herpesvirus 6 (including roseola) and 7. In: Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS (editors). Red book: 2018 report of the Committee on Infectious Diseases. 31st ed. Itasca (IL): American Academy of Pediatrics; 2018. P 454—457.
86. Ogata M, Fukuda T, Teshima T. Human herpesvirus-6 encephalitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: what we do and do not know. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(8):1030—1036. DOI: 10.1038/bmt.2015.76.
87. Zerr DM. Human herpesvirus 6 and central nervous system disease in hematopoietic cell transplantation. *J Clin Virol* 2006; 37(Suppl 1):S52—S56. DOI: 10.1016/S1386-6532(06)70012-9.
88. Shiroshita K, Mori T, Kato J et al. Clinical characteristics of human herpesvirus-6 myelitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and its favorable outcome by early intervention. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55(5):939—945. DOI: 10.1038/s41409-019-0755-2.
89. Seo S, Renaud C, Kuypers JM et al. Idiopathic pneumonia syndrome after hematopoietic cell transplantation: evidence of occult infectious etiologies. *Blood* 2015; 125(24):3789—3797. DOI: 10.1182/blood-2014-12-617035.
90. Ishio T, Endo T, Okada K et al. Human herpesvirus-6 pneumonitis around the engraftment of cord blood transplantation following foscarnet prophylaxis in a patient with acute leukemia. *Case Rep Hematol* 2015; 2015:949265. DOI: 10.1155/2015/949265.
91. Hill JA, Vande Vusse LK, Xie H et al. Human herpesvirus 6B and lower respiratory tract disease after hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol* 2019; 37(29):2670—2681. DOI: 10.1200/JCO.19.00908.
92. Mariotte E, Schnell D, Scieux C et al. Significance of herpesvirus 6 in BAL fluid of hematology patients with acute respiratory failure. *Infection* 2011; 39(3):225—230. DOI: 10.1007/s15010-011-0114-8.
93. Jouneau S, Poineuf JS, Minjolle S et al. Which patients should be tested for viruses on bronchoalveolar lavage fluid? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32(5):671—677. DOI: 10.1007/s10096-012-1791-7.
94. Amo K, Tanaka-Taya K, Inagi R et al. Human herpesvirus 6B infection of the large intestine of patients with diarrhea. *Clin Infect Dis* 2003; 36(1):120—123. DOI: 10.1086/345464.

95. Halme L, Arola J, Höckerstedt K, Lautenschlager I. Human herpesvirus 6 infection of the gastroduodenal mucosa. *Clin Infect Dis* 2008; 46(3):434—439. DOI: 10.1086/525264.
96. Humar A, Kumar D, Caliendo AM et al. Clinical impact of human herpesvirus 6 infection after liver transplantation. *Transplantation* 2002; 73(4):599—604. DOI: 10.1097/00007890-200202270-00021.
97. Mendez JC, Dockrell DH, Espy MJ et al. Human beta-herpesvirus interactions in solid organ transplant recipients. *J Infect Dis* 2001; 183(2):179—184. DOI: 10.1086/317929.
98. Dropulic LK, Jones RJ. Polyomavirus BK infection in blood and marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41(1):11—18. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705886.
99. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N (editors). *The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies*. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5.
100. Васильева В. А., Паровичникова Е. Н., Дроков М. Ю. и др. Этиологические особенности геморрагического цистита после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия* 2018; 20(3):232—239.
101. Tokimasa S, Hara J, Osugi Y et al. Ganciclovir is effective for prophylaxis and treatment of human herpesvirus-6 in allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29(7):595—598. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703423.
102. Denes E, Magy L, Pradeau K et al. Successful treatment of human herpesvirus 6 encephalomyelitis in immunocompetent patient. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(4):729—731. DOI: 10.3201/eid1004.030587.
103. Ishiyama K, Katagiri T, Hoshino T et al. Preemptive therapy of human herpesvirus-6 encephalitis with foscarnet sodium for high-risk patients after hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46(6):863—869. DOI: 10.1038/bmt.2010.201.
104. Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. *Curr Opin Infect Dis* 2019; 32(6):584—590. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000592.
105. Zerr DM. Human herpesvirus 6 infection in hematopoietic cell transplant recipients. UpToDate; 2003. URL: [uptodate.com/contents/?search=HHV-6%20encephalitis&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/?search=HHV-6%20encephalitis&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1).
106. Лобанова Т. И., Паровичникова Е. Н., Тихомиров Д. С. и др. Герпес-вирусные инфекции 6-го типа у больных с заболеваниями системы крови при проведении химиотерапии и после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология* 2017; 62(4):211—217. DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-4-211-217.
107. Vittayawacharin P, E'Leimat G, Lee BJ et al. Once-daily foscarnet is effective for human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Cell Ther* 2023; 29(6):397.e1—397.e6. DOI: 10.1016/j.jtct.2023.02.022.

**Аспекты обеспечения
и проведения
предтрансплантационного
кондиционирования и режима
профилактики РТПХ при
трансплантации аллогенных
гемопозитических стволовых
клеток**

Глава 23.

Обеспечение сосудистого доступа при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Введение

Безопасный и надежный центральный венозный сосудистый доступ является необходимым условием выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Периферический сосудистый доступ для этих целей непригоден. Центральный венозный катетер (ЦВК) необходим как для реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), так и в ряде случаев — для доноров ГСК, у которых сосудистый доступ применяют для сбора ГСК.

В настоящее время при выполнении алло-ТГСК для получения ГСК все реже выполняют эксфузию костного мозга донора, а чаще применяют лейкоферез, получение ГСК из периферической крови донора, при котором необходимо обеспечить скорость потока крови от 10 до 150 мл/мин и который может быть проведен как заранее, так и непосредственно перед алло-ТГСК. С этой целью у доноров с затрудненным периферическим доступом по результатам опроса 1563 трансплантационных центров в 90% случаев используются двух- или трехпросветные катетеры, предназначенные для гемодиализа (табл. 1) [1]. Точкой доступа для установки этих катетеров служат бедренная, внутренняя яремная, подключичная или подкрыльцовая вены. Катетеры

устанавливают на короткий срок, как правило только на процедуру забора ГСК (1—2 дня), после чего сразу удаляют.

Таблица 1. Типы катетеров, применяемых на различных этапах ТГСК [1]

Тип ЦВК	Частота, %
Сбор ГСК	
Кратковременные нетуннелируемые диализные	68
Многопросветные диализные катетеры (Quinton, Marhukar и другие)	5
Другие	20
Не ответили	7
Алло-ТГСК	
Многопросветные туннелируемые	68
Многопросветные нетуннелируемые кратковременные (Arrow)	9
Многопросветные диализные нетуннелируемые (Quinton и другие)	5,5
Многопросветные, оснащенные клапаном (Groshong)	4
Полностью имплантируемые (порт-системы)	3
Периферически имплантируемые	2,5
Другие	5
Не ответили	3

Реципиентам ГСК центральный венозный доступ требуется на значительно более длительный период времени, начиная с кондиционирования, во время самой ТГСК и в посттрансплантационном периоде, когда его используют как в стационарных, так и в амбулаторных условиях. В общей сложности в надежном сосудистом доступе эта категория пациентов нуждается от нескольких месяцев до года (и более) [2]. Через ЦВК вводят большие объемы растворов, проводят антибактериальную терапию, парентеральное питание, иммуносупрессивную и/или цитостатическую терапию, трансфузии компонентов крови, экстракорпоральные методы лечения [2].

Сосудистый доступ к центральным венам может быть реализован через подключичную, подкрыльцовую, внутреннюю яремную вену и вены плеча (медиальная и латеральная подкожные, плечевые вены) — в верхнюю полую вену, а при невозможности катетеризации верхней полый вены используют доступ через бедренную вену к нижней полый вене [3]. Катетеризация наружной яремной вены нежелательна, что обусловлено ее малым размером, индивидуальной вариативностью расположения и места впадения. Также при катетеризации наружной яремной вены, в отличие от других вен бассейна верхней полый вены,

неправильное расположение дистального конца катетера выявляют у каждого 5 катетера (более 22%), что больше в 2,4 раза, чем при использовании подключичных вен и левой внутренней яремной вены, и в 24 раза больше, чем при осуществлении доступа через правую внутреннюю яремную вену [4].

Для катетеризации центральных вен могут быть использованы нетуннелируемые катетеры, туннелируемые катетеры (катетер Хикмана, катетер Леонарда), снабженные дакроновой муфтой, периферически имплантируемые ЦВК (ПИЦВК), а также полностью имплантируемые ЦВК (порт-системы) [1, 5]. Катетеры могут быть без антисептического/антибактериального покрытия и с таковым, одноканальными и многоканальными. Наличие нескольких каналов позволяет одновременно вводить несовместимые растворы, что облегчает проведение терапии, и им следует отдавать предпочтение при проведении алло-ТГСК. Материалом для изготовления катетеров являются силикон и полиуретан, камеры порт-систем могут быть выполнены из титана или пластика. Использование ЦВК, выполненных из жестких материалов (например, полиэтилена) нежелательно, так как они повреждают эндотелий сосудов, могут перфорировать сосуды, являются рентген-негативными [5]. Диаметр наиболее часто применяемых катетеров — от 3 до 12 Fr (1 French = 0,33 мм) и зависит от планируемого лечения. Некоторые катетеры могут быть снабжены клапанами на проксимальном или дистальном конце. Применение клапанов позволяет уменьшить риск воздушной эмболии и кровотечения в случае непредвиденной разгерметизации системы, что особенно важно при амбулаторном лечении.

При отсутствии необходимости в центральном венозном доступе в перитрансплантационном периоде сосудистый доступ может быть обеспечен применением катетеров средней длины (КСД), установленных через вены плеча, которые позволяют проводить отбор образцов крови для лабораторной диагностики, проводить терапию в течение 2—4 недель.

В зависимости от выбора сосудистого устройства зависит длительность и режим эксплуатации катетера (табл. 2).

Безопасность чрескожной пункции сосуда при катетеризации обеспечиваются ультразвуковым сопровождением. Благодаря этому частота ранений магистральных сосудов и постпункционных гематом не превышает 1,5% от общего числа катетеризаций, не было ни одного случая пневмоторакса или гемоторакса при выполнении почти 4,5 тысячи катетеризаций центральных вен [5]. Ультразвуковое сопровождение в настоящее время считается «золотым стандартом» при установке ЦВК через внутреннюю яремную вену, так как вена близко прилежит к по-

Таблица 2. Характеристики различных типов катетеров по длительности и режиму использования [6]

Катетер	Длительность использования	Доступ / дистальный конец	Режим использования
Катетеры средней длины	2—4 недели	Медиальная и латеральная подкожные, плечевые вены / подкрыльцовая, подключичная вены	Постоянный
Центральные венозные катетеры			
Нетуннелируемые	2—4 недели	Внутренняя яремная, подкрыльцовая, подключичная, общая бедренная вены / центральная вена	Постоянный
Периферически имплантируемые	до 12 (18) месяцев	Медиальная и латеральная подкожные, плечевые вены / центральная вена	Постоянный/перемежающийся
Туннелируемые	Месяцы — годы	Внутренняя яремная, подкрыльцовая, подключичная, общая бедренная вены / центральная вена	Постоянный/перемежающийся
Порт-системы	Месяцы — годы	Внутренняя яремная, подкрыльцовая, подключичная, общая бедренная, медиальная и латеральная подкожные, плечевые вены / центральная вена	Перемежающийся

верхности кожи и хорошо визуализируются смежные структуры [7]. Применение ультразвукового контроля сокращает время установки ЦВК ($9,83 \pm 3,1$ против $20 \pm 4,4$ мин, $p < 0,001$), уменьшает число осложнений: пневмоторакс — 0 против 2 случаев ($p < 0,05$), прокол сонной артерии — 1 против 16, $p < 0,05$). Кроме того, при использовании ультразвукового контроля не было неудачных попыток катетеризации (0 против 18, $p < 0,05$), причем со значительно меньшим количеством попыток (1 против 3, $p < 0,01$) по сравнению с техникой по анатомическим ориентирам [8]. Ультразвуковое сопровождение также позволяет без осложнений проводить манипуляцию при выраженной тромбоцитопении, что важно при рефрактерности к трансфузиям концентрата тромбоцитов [5].

Эксплуатация катетеров сопряжена с развитием поздних осложнений. У пациентов с нейтропенией при проведении иммуносупрессивной терапии высок риск инфекционных осложнений [местное воспаление и/или катетер-ассоциированная инфекция кровотока (КАИК)], что требует особой осторожности при манипуляциях с катетером и при уходе за ним. Другими поздними осложнениями являются катетер-ассоциированные тромбозы (КАТ) и венозные стенозы.

Нетуннелируемые центральные венозные катетеры

Это полиуретановые устройства длиной от 15 до 30 см и внешним диаметром до 12 Fr, которые имплантируются путем чрескожной пункции по Сельдингеру [9]. Преимуществом нетуннелируемых катетеров является возможность их быстрого удаления при первых клинических признаках инфекции кровотока (лихорадка, озноб, гиперемия/цианоз кожи, артериальная гипотония, тахикардия, связь перечисленных симптомов с инфузией через катетер).

Существуют версии катетеров с нанесенным антисептическим или антибактериальным покрытиями, импрегнированные серебром, возможно сочетание различных типов покрытий. Метаанализ [10] использования катетеров с антимикробным покрытием показал, что только катетеры, обработанные хлоргексидином в сочетании с сульфадиазином серебра [отношение рисков (ОР) 0,66; 95% доверительный интервал (ДИ) 0,47—0,93], и катетеры с миноциклином и рифампицином (ОР 0,12; 95% ДИ 0,02—0,67) значительно снижали риск КАИК по сравнению с необработанными катетерами.

В наших исследованиях [11] при сравнении нетуннелируемых центральных венозных катетеров без антимикробного покрытия и с антимикробным покрытием в перитрансплантационном периоде длительность их использования значимо не различалась, медианы составили соответственно 19 и 22 дня; не было значимых различий и в вероятности инфицирования ($p = 0,298$), то есть применение нетуннелируемых катетеров с антисептическим покрытием не уменьшало вероятности их инфицирования на протяжении 30 дней по сравнению с катетерами без покрытия.

Принимая во внимание медиану эксплуатации этих катетеров, через 21 день от установки рекомендуется рассмотреть вопрос о дальнейшем применении ЦВК и при необходимости провести плановую смену или выбрать другой тип катетера и/или сосудистого доступа.

Использование нетуннелируемых катетеров в амбулаторных условиях не рекомендуется, так как риск их инфицирования или случайного повреждения либо удаления выше по сравнению с другими типами ЦВК, вследствие того, что катетеры не имеют в своем устройстве манжеты, фиксируются к коже лигатурой или специальными бесшовными устройствами, возможна воздушная эмболия при их использовании в домашних условиях [6].

Туннелируемые центральные венозные катетеры

Туннелируемые катетеры — это частично имплантируемые катетеры, у которых при помощи подкожного туннеля разнесены места пункции вены и выхода на кожу. Внутри туннеля на катетере располагается дакроновая муфта, которая в процессе эксплуатации катетера в течение 2 (до 4) недель обрастает фиброзной тканью и удерживает катетер, не давая ему смещаться. Кроме того, муфта предотвращает экстралюминальное распространение микроорганизмов с поверхности кожи [12]. С этой целью некоторые туннелируемые катетеры снабжены еще дополнительной второй муфтой, пропитанной антибактериальным или антисептическим препаратом, что уменьшает риск возникновения инфекционных осложнений в период «врастания» катетера [13]. При анализе использования катетера Хикмана у 316 пациентов инфекция подкожного туннеля была выявлена лишь в 2% случаев [14].

Изначально туннелируемые катетеры использовались для проведения парентерального питания, но затем они были адаптированы для проведения химиотерапии, ТГСК [15]. Этот тип катетера предпочтительнее нетуннелируемого при необходимости проведения массивной инфузионной терапии при планируемом сроке использования более 21 дня [16]. По данным J. Того и соавт. [1], туннелируемый катетер при проведении алло-ТГСК использовался у 68% больных (табл. 1). Причинами удаления катетеров Хикмана являются прекращение терапии либо осложнения, в том числе сепсис, миграция катетера, КАТ и окклюзия просвета катетера [17].

По нашим данным [12], при использовании туннелируемых катетеров выявляются следующие осложнения: случайное удаление (1,6%), разрыв катетера (6,5%), обструкция катетера (18 пациентов, из них у 14 функция катетера восстановлена, у 4 катетер удален), КАТ [8% пациентов (0,3/1000 катетеро-дней)], КАИК (1,5/1000 катетеро-дней), инфекция выходного отверстия (1,2/1000 катетеро-дней) [12].

Одной из особенностей имплантации туннелируемого катетера является высокий риск случайного смещения/удаления катетера в период врастания манжеты [18]. Для снижения риска случайного удаления применяются методы прошивания катетера вокруг муфты, что позволяет обжимать катетер тканями и препятствует его смещению [13, 19–22].

Сравнение туннелируемого и нетуннелируемого катетеров

В отличие от нетуннелируемых установка и удаление туннелируемых катетеров представляет собой более сложную задачу. Оправданно ли их применение при алло-ТГСК? Чтобы ответить на этот вопрос, нами было выполнено сравнение туннелируемых катетеров Хикмана (12 Fr) и Леонарда (10 Fr) с нетуннелируемыми катетерами (Certofix Duo, B.Braun 7 Fr, Certofix Protect Duo, B.Braun 7 Fr) при проведении алло-ТГСК [12]. Учитывались длительность эксплуатации, сроки развития осложнений. В течение первых 28 дней вероятность КАИК для туннелируемых и нетуннелируемых катетеров статистически значимо не различалась ($p = 0,424$).

Однако туннелируемые катетеры использовались значительно дольше нетуннелируемых, и вероятность инфицирования катетеров Хикмана и Леонарда при эксплуатации более 70 дней оказалась статистически значимо ниже ($p = 0,037$), чем нетуннелируемых катетеров (рис. 1) [12].

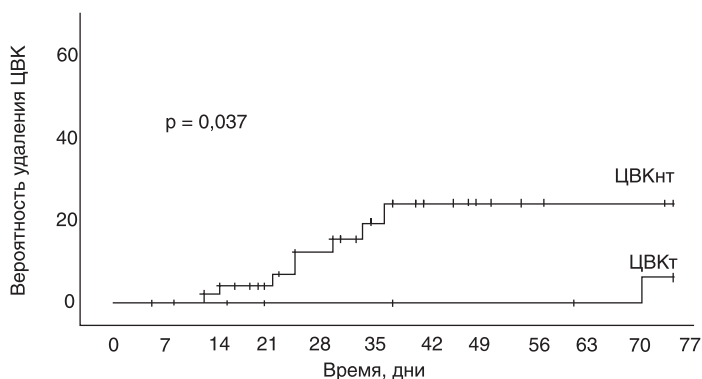


Рисунок 1. Вероятность удаления ЦВК в связи с инфицированием. ЦВКнт — ЦВК нетуннелируемые; ЦВКт — ЦВК туннелируемые.

В течение года одному пациенту после алло-ТГСК устанавливают ≥ 10 нетуннелируемых катетеров, медиана длительности эксплуатации которых составляет 29 дней (от 1 до 123), и лишь один туннелируемый катетер Хикмана или Леонарда ($p = 0,0001$) с длительностью эксплуатации 131 день (от 9 до 331). Инцидентность КАИК при использовании нетуннелируемых катетеров составляет 4,7/1000 катетеро-дней, а туннелируемых — 1,6/1000 катетеро-дней. Таким образом, в долгосрочной перспективе длительность эксплуатации туннелируемых кате-

теров в 4,5 раза больше, чем нетуннелируемых, при меньшем количестве катетеров, установленных одному пациенту (1 по сравнению с 10, $p = 0,0001$), а инцидентность КАИК в первые 100 дней после алло-ТГСК при использовании туннелируемых катетеров в 3 раза меньше [12].

Риск развития КАИК при использовании туннелируемых ЦВК увеличивался после 150-го дня эксплуатации (рис. 2) [12].

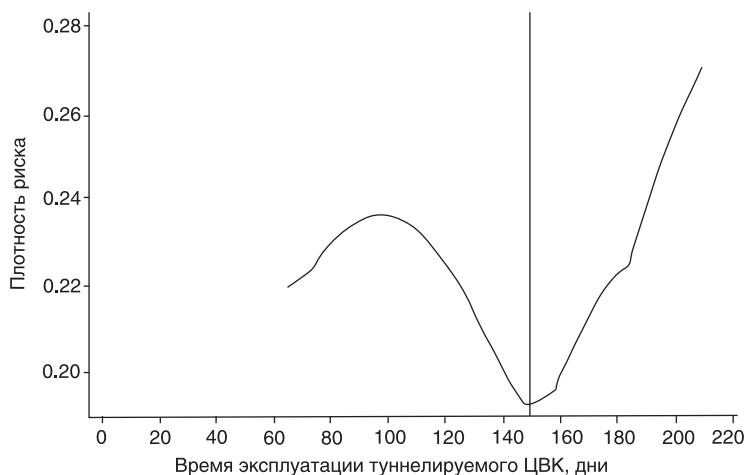


Рисунок 2. График ядерной оценки функции риска (ядро Епанечникова) развития КАИК при использовании туннелируемых ЦВК.

Длительность использования в течение 150 дней от момента имплантации туннелируемого ЦВК является оправданной и оптимальной из-за развития осложнений (инфекционные, реакция «трансплантат против хозяина») после проведения алло-ТГСК [12]. Решение о дальнейшем применении должно быть персонализированным.

Периферически имплантируемые центральные венозные катетеры

ПИЦВК — это катетеры для долговременного центрального венозного доступа, которые устанавливают через одну из периферических вен руки в центральную вену. ПИЦВК изготавливаются из силикона или полиуретана, они могут быть одно-, двух- и трехпросветными [23], их диаметр может варьировать от 3 до 7 Fr, но у взрослых пациентов чаще устанавливают катетеры диаметром 4 или 5 Fr. Исходно ПИЦВК

предназначались для парентерального питания, не превышающего 12 недель, но в последующем стали применяться в течение более длительного времени и по другим показаниям (химиотерапия, гемостатическая терапия и т. д.) [23]. В настоящее время ПИЦВК используют для проведения терапии, в среднем, от 6 мес до 1 года и рассматривают как вариант центрального венозного доступа, который может использоваться как в стационарных, так и в амбулаторных условиях, как ежедневно, так и периодически, обеспечивая пациенту безопасность и комфорт [23]. Использование ПИЦВК, оснащенных встроенными в конструкцию клапанами (внутренние или внешние), обеспечивает дополнительную безопасность пациентов во время лечения в амбулаторном режиме [5].

ПИЦВК имеют ряд преимуществ перед другими ЦВК. При их установке полностью исключен риск пневмоторакса и гемоторакса, в случае неудачной попытки или случайной пункции артерии легко осуществить мануальную компрессию, катетеризация возможна при тромбоцитопении $10-20 \times 10^9/\text{л}$ и других нарушениях гемостаза без предварительной коррекции (подготовки) [24]. Пациенты отмечают больший комфорт, иногда предпочитают ПИЦВК по косметическим причинам. Важным преимуществом ПИЦВК является и меньшее количество инфекционных осложнений [5]. У гематологических пациентов при использовании ПИЦВК КАИК возникала в 1,23 случая на 1000 катетеро-дней, а при нетуннелируемых ЦВК — 5,30 на 1000 катетеро-дней ($p < 0,01$) [25].

Несмотря на возросшее применение ПИЦВК у гематологических пациентов, публикации об использовании данного типа катетеров при алло-ТГСК единичны [26, 27]. Сообщается о сравнении 100 силиконовых и полиуретановых ПИЦВК при проведении алло-ТГСК у взрослых, отмечается более простая процедура установки и удаления катетера, низкая частота и инцидентность инфекционных осложнений по сравнению с туннелируемыми ЦВК. Средняя продолжительность эксплуатации ПИЦВК составила 117 дней. У 68% пациентов катетер был удален после 100-го дня эксплуатации. КАИК возникли у 32% пациентов (2,5/1000 катетеро-дней) и в 8 случаях сопровождалась тромбозом. КАТ был зафиксирован у 9% пациентов, и ни в одном из случаев не понадобилось удаление катетера. Механические осложнения возникли в 15% случаев (1,2/1000 катетеро-дней). В целом нежелательные явления были управляемыми и не влияли на исход трансплантации [26].

Показано, что уменьшение риска КАИК при использовании ПИЦВК связано с амбулаторным режимом лечения [28]. Риск КАИК при использовании ПИЦВК у госпитализированных пациентов был

в 10 раз выше, чем у амбулаторных пациентов [29]. В других исследованиях [28] эти показатели составили 2,1% и 0,5% — 3,3/1000 и 0,53/1000 катетеро-дней соответственно [28]; 2,1/1000 и 1,1/1000 катетеро-дней [18]. Такая закономерность объясняется тем, что у амбулаторных пациентов ПИЦВК используется периодически, в то время как у госпитализированных — в постоянном и/или интермиттирующем режиме. Через катетеры проводится аспирация крови для лабораторных исследований, инфузии, парентеральное питание, заместительная трансфузионная терапия, что увеличивает риск инфицирования вследствие необходимости частых манипуляций с катетером [5].

К эксплуатационным особенностям ПИЦВК можно отнести длину и диаметр катетеров, так как это ограничивает объемную скорость инфузий. В этих случаях необходимо использовать инфузионные насосы (перистальтический или шприцевой дозатор).

Полностью имплантируемые центральные венозные катетеры (порт-системы)

Порт-системы используют для обеспечения долгосрочного венозного доступа [30]. Порт-системы полностью скрыты от внешней среды под кожей, их наличие не влияет на физическую активность пациентов, порт-система — это наименее подверженный инфицированию тип ЦВК [18].

Использование порт-систем для проведения алло-ТГСК представляется нерациональным, так как однокамерные порт-системы не позволяют вводить несовместимые растворы одновременно, пропускная способность порт-систем ограничена конструктивными особенностями и диаметром иглы Губера (Huber), высок риск инфицирования порт-систем при длительном использовании в стационаре, особенно в случаях необходимости проведения трансфузионной терапии и парентерального питания. Даже в случаях эксплуатации двухкамерных порт-систем при алло-ТГСК отмечено, что для обеспечения терапии может потребоваться дополнительный ЦВК, а риск инфицирования у пациентов, получивших кондиционирование в миелоаблативном режиме, выше [31].

В этой связи порт-системы могут рассматриваться как сосудистый доступ выбора у пациентов, перенесших алло-ТГСК, которые нуждаются в поддерживающей терапии в амбулаторных условиях. Если же пациент поступает на трансплантацию с уже установленной ранее порт-системой, то рациональным решением является консервация порт-системы до начала кондиционирования и установка на период

кондиционирования и трансплантации туннелируемого или нетуннелируемого ЦВК. В случае необходимости порт-система может быть временно использована, например на время смены ЦВК, и далее вновь законсервирована с применением антисептических препаратов. Эксплуатацию порт-системы можно возобновить после выписки пациента из стационара.

Тактика при выявлении инфекционных осложнений

При КАИК, в зависимости от выявляемого возбудителя, определяется дальнейшая тактика: удаление или санация катетера.

Согласно рекомендациям Американского общества по инфекционным болезням (США) [32], нетуннелируемые ЦВК следует удалять незамедлительно при выделении грамотрицательных бактерий, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, грибов или микобактерий [32], туннелируемые же катетеры должны быть удалены в случае инфекции, вызванной *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, грибами или микобактериями, а также в случае неэффективности в течение 72 часов антимикробной терапии, назначенной с учетом чувствительности микроорганизмов.

При инфекции подкожного канала в случае туннелируемого катетера и инфекции подкожного кармана при применении порт-систем венозные устройства подлежат удалению [5].

В то же время, по мнению J. Niemenz и соавт. [33], удаление туннелируемого катетера в связи с лихорадкой при отсутствии микробиологических доказательств того, что катетер может быть источником инфекции, является необоснованным. Необходимо эмпирически назначать антибактериальные средства, а также соблюдать асептику и правильный уход за катетером [33].

Существуют различные варианты санации туннелируемых катетеров: с использованием антимикробных «замков», этанола, препаратов для консервации [34]. Использование антимикробных «замков» преследует цель достичь в ограниченном пространстве концентрации лекарственного препарата, в несколько раз превышающей минимальную ингибирующую концентрацию для определенного возбудителя, и предотвратить возможное образование биопленки [35].

S. Zanvar и соавт. [36] сообщили о результатах санации туннелируемых ЦВК, установленных 224 онкогематологическим пациентам при проведении ТГСК. КАИК была выявлена у 10,7% пациентов. Частота успешной антибактериальной терапии была выше в группе, где использовали антимикробный «замок», по сравнению с группой, где применялось только системное воздействие (86,6% против 55,5%) [36].

В нашем исследовании [12] санация при выявлении КАИК была проведена в 15 случаях, из которых только в 2 (13,3%) была неэффективной. Инфекция выходного отверстия выявлена у 11 больных (1,2/1000 катетеро-дней) и в 8 (72,7%) случаях была успешно вылечена консервативно. У 3 больных инфекция выходного отверстия сочеталась с инфекцией подкожного канала, что потребовало удаления катетера во всех случаях [12].

Решение об удалении, плановой замене или санации долговременного (туннелируемый, ПИЦВК, порт-система) катетера должно приниматься в каждом случае индивидуально на основании статуса пациента, проводимого и планируемого лечения.

Тактика при выявлении катетер-ассоциированного тромбоза

Среди факторов риска КАТ выделяют инфекцию, проведение более двух курсов химиотерапии через ЦВК, травму стенки сосуда, воспаление эндотелия, прокоагулянтную активность опухоли, возраст пациентов, характеристики ЦВК (материал, соответствие диаметра катетера диаметру вен, место установки и т. д.) [37, 38].

Опасность КАТ заключается в высоком риске тромбозэмболических осложнений, а применение антикоагулянтной терапии у гематологических пациентов ограничено из-за сопутствующей тромбоцитопении и риска геморрагических осложнений [39].

Истинная частота КАТ после алло-ТГСК, факторы риска, а также методы профилактики и лечения до конца не изучены [40]. В одно из крупных исследований [41], посвященных этому вопросу, было включено 1514 пациентов после ТГСК, у которых к 180-му дню наблюдения было зафиксировано 75 (4,6%) венозно-тромбозэмболических осложнений, 55 (73,3%) из которых были связаны с ЦВК. В 60% случаев выявления тромботических осложнений была тромбоцитопения $< 100 \times 10^9/\text{л}$, в 34% — $< 50 \times 10^9/\text{л}$ и в 13% — $< 20 \times 10^9/\text{л}$ [41]. Такая вариабельность показателей, безусловно, затрудняет лечение. При многомерном анализе факторами риска развития осложнений были выявлены тромботические осложнения в анамнезе (ОР 2,9; 95% ДИ 1,3–6,6) и РТПХ (ОР 2,4; 95% ДИ 1,4–4,0) [41]. Хроническая РТПХ и применение глюкокортикостероидных гормонов также являются факторами тромботических осложнений после алло-ТГСК [40, 42].

Частота КАТ у пациентов, перенесших алло-ТГСК, составляет 9% [12]. Риск КАТ увеличивается при катетеризации бедренным досту-

пом, использовании нетуннелируемого катетера, частой катетеризации и с возрастом пациентов [5].

При подозрении на КАТ (отек в месте установки ЦВК и/или конечности на стороне стояния катетера, боль, ограничение движений) необходимо выполнение ультразвуковой доплерографии с целью подтверждения диагноза и оценки кровотока. При наличии клиники КАТ и/или выявлении полностью обтурирующего просвета сосуда тромба показано удаление катетера и проведение антикоагулянтной терапии.

В случаях бессимптомного течения КАТ, выявленного при плановом исследовании, и сохраненном кровотоке решение об удалении катетера необходимо принимать индивидуально на основании оценки риска тромбоэмболических осложнений и пользы (необходимости) сохранения ЦВК, принимая во внимание приоритет удаления.

При выявлении КАТ у пациентов с тромбоцитопенией и получавших антикоагулянтную терапию нефракционированным или низкомолекулярными гепаринами обязательным является исключение гепарин-индуцированной тромбоцитопении [43].

Антикоагулянтная терапия у пациентов, перенесших алло-ТГСК, нуждается в персонализированном подходе [12]. Хорошие результаты были показаны при лечении и профилактике КАТ низкомолекулярными гепаринами [44], но не менее эффективны и пероральные антикоагулянты (например, апиксабан, ривароксабан) [45].

Уход за сосудистым устройством

Проблемы дисфункции, тромботических и инфекционных осложнений актуальны с начала применения катетеров. Одной из мер предотвращения поздних осложнений (КАИК, КАТ) является правильный уход за катетером [46].

Регулярное промывание катетеров уменьшает отложение фибрина, снижает риск образования биопленки и обструкции катетера [47]. Регулярная обработка места выхода катетера способствует уменьшению роста патогенных микроорганизмов.

Обработку катетера необходимо выполнять, соблюдая основной принцип асептики — все, что соприкасается с раной, должно быть стерильно.

Обработка рук — этот простой, но важный метод профилактики. Правильная и своевременная обработка рук является залогом безопасности медицинского персонала и пациентов. Обработка рук перед и после манипуляций, использование стерильного материала является обязательным условием, так как позволяют уменьшить риск инфекци-

онных осложнений. Использование специально подготовленных стерильных наборов индивидуального применения дополнительно уменьшает риск возникновения инфекционных осложнений, особенно КАИК.

Растворы для обработки

При выборе растворов для обработки места установки катетера следует руководствоваться рекомендациями производителей катетеров, но в основном обработку осуществляют растворами хлоргексидина и повидон-йода. Возможно сочетание растворов, например, после обработки повидон-йодом дополнительно проводится обработка спиртовым раствором хлоргексидина. Так как хлоргексидин и повидон-йод имеют разные механизмы действия и разные спектры эффективности, есть данные о потенциальном синергетическом эффекте [48]. При совместном применении растворов лучше визуализируется обработанное поле и убираются излишки повидон-йода. Такое сочетание возможно только после полного высыхания предыдущего раствора, используемого при обработке.

Асептические повязки

Важно, чтобы катетеры были надежно защищены от микробного загрязнения из окружающей среды и прикреплены к коже. Повязки и фиксация катетера должны гарантированно предотвращать смещение наружной и внутренней частей катетера или иглы Губера. Это может произойти из-за движений пациента или при избыточном давлении на внешнюю часть катетера, как случайного, так и преднамеренного [49], что в свою очередь может препятствовать проведению плановой терапии и быть причиной таких осложнений, как экстравазация лекарственных средств, воздушная эмболия.

Идеальная повязка должна соответствовать следующим критериям:

- обеспечивать барьерную функцию против колонизации и размножения микроорганизмов;
- обеспечивать долговременную надежную защиту от смещения и случайного удаления катетера;
- быть биосовместимой и гипоаллергенной;
- при смене не нарушать целостность кожных покровов;
- не стеснять движений пациента, обеспечивая возможность осуществлять максимально привычную физическую активность;
- быть удобной в использовании для персонала.

Широко распространенными в настоящее время являются марлевые (впитывающие) с фиксацией тканевым лейкопластырем и самоклея-

щиеся полупроницаемые полиуретановые прозрачные повязки. Помимо отвода водяного пара и осуществления барьерной функции, прозрачные полупроницаемые полиуретановые повязки обеспечивают возможность непрерывного осмотра места установки катетера. Будучи водонепроницаемыми, повязки позволяют пациентам принимать душ и обладают более длительным ресурсом эксплуатации, что увеличивает временной интервал для их смены [5].

Помимо этого, современные повязки могут обладать антимикробным действием благодаря добавлению антибактериальных и антисептических препаратов непосредственно в повязку. Применение антибактериальных препаратов в повязках, как и в случае с катетерами, вызывает сомнения в их эффективности и целесообразности, так как возможно приобретение микроорганизмами резистентности, особенно госпитальными штаммами [5].

Из повязок с антисептическими препаратами популярными являются повязки, пропитанные глюконатом хлоргексидина и йодом [5].

Если в месте установки катетера наблюдается кровотечение или лимфорей в следствие травматичной установки или геморрагического синдрома, то до разрешения ситуации предпочтительна марлевая (впитывающая) повязка.

От типа применяемой повязки и клинической ситуации зависит и частота ее замены. Обработка места выхода катетера при отклеивании и загрязнении повязки должна осуществляться немедленно. Планово (рутинно) повязки должны меняться в соответствии с рекомендацией производителя.

Средние сроки эксплуатации повязок:

- марлевые (впитывающие) — 2 дня,
- полиуретановые паропроницаемые — 3—5 дней,
- с антисептическими препаратами — 7 дней.

Промывание катетера

После использования и при смене инфузионных линий каждый ход катетера необходимо промыть физиологическим раствором, используя при этом шприц объемом не менее 10 мл (табл. 3). Катетер должен быть промыт как можно скорее при появлении крови в видимой части, и наиболее актуально это при использовании катетера в амбулаторном режиме.

Промывание катетера в стационаре осуществляют медсестры, а при амбулаторном лечении это могут быть медсестры лечебно-профилактических учреждений, родственники (опекуны), получившие необходимые навыки по уходу за катетером и непосредственно сам пациент.

После длительного перерыва необходимо после проведения аспирационной пробы промыть катетер перед использованием.

Закрытие катетера в случае кратковременного перерыва допустимо осуществлять физиологическим раствором или гепаринизированным физиологическим раствором с содержанием нефракционированного гепарина 100 Ед в 1 мл раствора (табл. 3), кроме случаев подтвержденной гепарин-индуцированной тромбоцитопении. В этом случае, а также при длительных (10 дней и более) перерывах в эксплуатации катетера закрывать катетер предпочтительно с применением антисептических препаратов и/или препаратов на основе цитрата [50].

Таблица 3. Промывание и закрытие катетера [5]

Промывание катетера	Введение препаратов	Промывать катетеры необходимо до и после введения лекарственных препаратов. Использовать болюсное (струйное) промывание 10 мл физиологического раствора для каждого канала катетера
	Парентеральное питание, компоненты крови	После введения через катетер компонентов крови или парентерального питания использовать 20 мл (10 мл × 2 шприца) физиологического раствора для промывания катетера. Промывать необходимо, чередуя импульсный режим («старт—стоп») и струйное (болюсное) введение
Закрытие (консервация) катетера	Объем раствора	1,5 мл для КСД, ПИЦВК, нетуннелируемых ЦВК и туннелируемых ЦВК с небольшим (≤ 1 мм) внутренним диаметром. 2,0–2,5 мл для туннелируемых ЦВК с большим (≥ 1 мм) внутренним диаметром (в каждый канал), порт-систем
	Режимы	Каждые 8–24 ч для кратковременных ЦВК и ПИЦВК без клапана. Еженедельно — для туннелируемых ЦВК и ПИЦВК с клапаном. Каждые 6–8 недель для порт-систем

Заключение

Проведение алло-ТГСК возможно с применением любого типа ЦВК. У пациентов на стационарном лечении представляется целесообразным использовать туннелируемые катетеры (катетеры Хикмана, Леонарда) на период до 120–150 дней [12], при эксплуатации которых КАИК регистрируется в 3 раза реже, чем при эксплуатации ПИЦВК (в среднем 0,56/1000 по сравнению с 1,63/1000 катетеро-дней, $p < 0,05$), и которые обладают большой пропускной способностью при

развитии urgentных ситуаций и имеют длительный срок эксплуатации. Сроки развития КАИК при использовании туннелируемых ЦВК также больше, чем при использовании ПИЦВК (297 ± 387 дней по сравнению с 84 ± 94 днями, $p < 0,05$) [51].

Для лечения в условиях дневного стационара (амбулаторно) предпочтительно устанавливать ПИЦВК или порт-систему в соответствии с планом лечения.

ПИЦВК и КСД незаменимы при наличии выраженного геморрагического синдрома.

Катетеры, установленные в вены плеча, меньше ограничивают активность пациентов, лучше воспринимаются большинством пациентов и могут быть установлены в посттрансплантационном периоде после применения других типов катетеров, например нетуннелируемого и туннелируемого ЦВК.

Применение КСД снижает частоту пункций периферических вен и риск осложнений, связанных с использованием ЦВК. Может использоваться для проведения сопроводительной терапии у пациентов после алло-ТГСК.

По результатам исследований и накопленного опыта нами разработан алгоритм по обеспечению сосудистого доступа у пациентов в перитрансплантационном периоде при проведении алло-ТГСК (прил. 1).

Обучение среднего медицинского персонала и пациентов навыкам ухода за венозными устройствами позволяет снизить частоту поздних осложнений.

Знание медицинскими работниками (врачами, медсестрами) и пациентами особенностей проведения алло-ТГСК, преимуществ и недостатков разных типов катетеров помогает выбрать оптимальный, наименее дискомфортный и безопасный режим обеспечения сосудистого доступа на весь перитрансплантационный период.

Литература

1. Toro JJ, Morales M, Loberiza F et al. Patterns of use of vascular access devices in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: results of an international survey. *Support Care Cancer* 2007; 15(12):1375—1383.
2. Wingard JR, Hsu J, Hiemenz JW. Hematopoietic stem cell transplantation: an overview of infection risks and epidemiology. *Infect Dis Clin North Am* 2010; 24(2):257—272.
3. Patrick SP, Tijnelis MA, Johnson S, Herbert ME. Supraclavicular subclavian vein catheterization: the forgotten central line. *West J Emerg Med* 2009; 10(2): 110—114.
4. Шулуто Е. М., Судейкина Н. Н., Городецкий В. М. Рекомендации по обеспечению венозного доступа // Программное лечение заболеваний системы крови / под ред. В. Г. Савченко. М.: Практика, 2012. Т. 2. С. 903—946.
5. Галстян Г. М., Спирин М. В. Сосудистый доступ в гематологии. М.: Практика, 2021. 232 с.
6. Zerati AE, Wolosker N, de Luccia N, Puech-Leão P. Totally implantable venous catheters: history, implantation technique and complications. *J Vasc Bras* 2017; 16(2):128—139.
7. Milling TJ Jr, Rose J, Briggs WM et al. Randomized, controlled clinical trial of point-of-care limited ultrasonography assistance of central venous cannulation: The Third Sonography Outcomes Assessment Program (SOAP-3) Trial. *Crit Care Med* 2005; 33(8):1764—1769.
8. Serafimidis K, Sakorafas GH, Konstantoudakis G et al. Ultrasound-guided catheterization of the internal jugular vein in oncologic patients; comparison with the classical anatomic landmark technique: a prospective study. *Int J Surg* 2009; 7(6):526—528.
9. Seldinger SI. Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography: a new technique. *Acta Radiol* 1953; 39(5):368—376.
10. Ramritu P, Halton K, Collignon P et al. A systematic review comparing the relative effectiveness of antimicrobial-coated catheters in intensive care units. *Am J Infect Control* 2008; 36(2):104—117.
11. Spirin MV, Makarova PV, Galstyan GM, Drovkov MY. The choice of central venous catheters (CVCS) in patients (pts) undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). *Intensive Care Med Exp* 2018; 6(S2): 441—442.
12. Спирин М. В., Галстян Г. М., Дроков М. Ю. Обеспечение центрального венозного доступа при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология* 2019; 64(4):396—411.
13. Bond SJ, Bond BS. Exit site purse-string suture to secure long-term venous catheters. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1993; 17(6):583—584.
14. Rotstein C, Brock L, Roberts RS. The incidence of first Hickman catheter-related infection and predictors of catheter removal in cancer patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16(8):451—458.

15. Gow KW, Tapper D, Hickman RO. Between the lines: The 50th anniversary of long-term central venous catheters. *Am J Surg* 2017; 213(5):837–848.
16. Yeral M, Boğa C, Oğuzkurt L et al. Tunnelled central venous catheter-related problems in the early phase of haematopoietic stem cell transplantation and effects on transplant outcome. *Turk J Haematol* 2015; 32(1):51–57.
17. Ray S, Stacey R, Imrie M, Filshie J. A review of 560 Hickman catheter insertions. *Anaesthesia* 1996; 51(10):981–985.
18. Maki DG, Kluger DM, Crnich CJ. The risk of bloodstream infection in adults with different intravascular devices: a systematic review of 200 published prospective studies. *Mayo Clin Proc* 2006; 81(9):1159–1171.
19. Ramsey C, McClure H, Bhambra B et al. Early cuff anchorage for tunneled central venous catheters using a buried absorbable suture. *J Vasc Access* 2012; 13(1):96–100.
20. Sri Paran T, Corbally M, Fitzgerald RI. New technique for fixation of Broviac catheters. *J Pediatr Surg* 2003; 38(1):51–52.
21. Sando K, Fujii M, Okada A. Anchoring fixation suture to secure Broviac catheters. *Br J Surg* 1997; 84(9):1304.
22. Redo SF. Modified catheter for prolonged central venous use. *J Pediatr Surg* 1995; 30(11):1544–1545.
23. Hamilton H, Bodenham A (editors). Central venous catheters. Oxford (UK): Wiley-Blackwell; 2009. 253 p.
24. Спирин М. В., Галстян Г. М., Полеводова О. А. и др. Периферические имплантируемые центральные венозные катетеры для обеспечения длительного сосудистого доступа у больных с геморрагическим синдромом. *Гематология и трансфузиология* 2017; 62(4):203–210.
25. Sakai T, Kohda K, Konuma Y et al. A role for peripherally inserted central venous catheters in the prevention of catheter-related blood stream infections in patients with hematological malignancies. *Int J Hematol* 2014; 100(6):592–598.
26. Mariggiò E, Iori AP, Micozzi A et al. Peripherally inserted central catheters in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Support Care Cancer* 2020; 28(9):4193–4199.
27. Shih YH, Teng CJ, Chen TC et al. Dual-lumen power injectable peripherally inserted central catheters in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: A prospective observational study. *J Clin Nurs* 2022; 31(11–12):1654–1661.
28. Grau D, Clarivet B, Lotthé A et al. Complications with peripherally inserted central catheters (PICCs) used in hospitalized patients and outpatients: a prospective cohort study. *Antimicrob Resist Infect Control* 2017; 6:18.
29. Smith JR, Friedell ML, Cheatham ML et al. Peripherally inserted central catheters revisited. *Am J Surg* 1998; 176(2):208–211.
30. Ewenstein BM, Valentino LA, Journeycake JM et al. Consensus recommendations for use of central venous access devices in haemophilia. *Haemophilia* 2004; 10(5):629–648.
31. Platzbecker U, Illmer T, Schaich M et al. Double lumen port access in patients receiving allogeneic blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28(11):1067–1072.

32. Mermel LA, Allon M, Bouza E et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 49(1): 1—45.
33. Hiemenz J, Skelton J, Pizzo PA. Perspective on the management of catheter-related infections in cancer patients. *Pediatr Infect Dis* 1986; 5(1):6—11.
34. Багирова Н. С. Инфекции, связанные с внутрисосудистыми устройствами: терминология, диагностика, профилактика и терапия. Злокачественные опухоли 2014; 3:164—171.
35. Bustos C, Aguinaga A, Carmona-Torre F, Del Pozo JL. Long-term catheterization: current approaches in the diagnosis and treatment of port-related infections. *Infect Drug Resist* 2014; 7:25—35.
36. Zanwar S, Jain P, Gokarn A et al. Antibiotic lock therapy for salvage of tunneled central venous catheters with catheter colonization and catheter-related bloodstream infection. *Transpl Infect Dis* 2019; 21(1):e13017.
37. Joks M, Czyż A, Popławski D, Komarnicki M. Incidence and risk factors for central venous catheter-related thrombosis in hematological patients. *Med Oncol* 2014; 31(1):772.
38. van Rooden CJ, Schippers EF, Barge RM et al. Infectious complications of central venous catheters increase the risk of catheter-related thrombosis in hematologic patients: A prospective study. *J Clin Oncol* 2005; 23(12):2655—2660.
39. Annibali O, Napolitano M, Avvisati G, Siragusa S. Incidence of venous thromboembolism and use of anticoagulation in hematological malignancies: Critical review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018; 124:41—50.
40. Pihusch R, Salat C, Schmidt E et al. Hemostatic complications in bone marrow transplantation: a retrospective analysis of 447 patients. *Transplantation* 2002; 74(9):1303—1309.
41. Gerber DE, Segal JB, Levy MY et al. The incidence of and risk factors for venous thromboembolism (VTE) and bleeding among 1514 patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: implications for VTE prevention. *Blood* 2008; 112(3):504—510.
42. Zhang XH, Feng FE, Han W et al. High-dose corticosteroid associated with catheter-related thrombosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Thromb Res* 2016; 144:6—11.
43. Галстян Г. М., Колосова И. В., Модел С. В. и др. Гепарининдуцированная тромбоцитопения у онкогематологических больных с миелотоксической тромбоцитопенией. *Гематология и трансфузиология* 2015; 60(3):53—57.
44. Herishanu Y, Misgav M, Kirgner I et al. Enoxaparin can be used safely in patients with severe thrombocytopenia due to intensive chemotherapy regimens. *Leuk Lymphoma* 2004; 45(7):1407—1411.
45. Young A, Phillips J, Hancocks H et al. Anticoagulation therapy in selected cancer patients at risk of recurrence of venous thromboembolism: results of the select-DTM pilot trial. *Thromb Res* 2016; 140(Suppl 1):S172—S173.
46. Taylor RW, Palagiri AV. Central venous catheterization. *Crit Care Med* 2007; 35(5):1390—1396.

47. Goossens GA. Flushing and locking of venous catheters: available evidence and evidence deficit. *Nurs Res Pract* 2015; 2015:985686.
48. Anderson MJ, Horn ME, Lin YC et al. Efficacy of concurrent application of chlorhexidine gluconate and povidone iodine against six nosocomial pathogens. *Am J Infect Control* 2010; 38(10):826—831.
49. Naimer SA, Temira F. Evaluation of techniques for intravenous catheter and tubing fixation. *Mil Med* 2004; 169(1):79—81.
50. Grudzinski A, Agarwal A, Bhatnagar N, Nesrallah G. Benefits and harms of citrate locking solutions for hemodialysis catheters: a systematic review and meta-analysis. *Can J Kidney Health Dis* 2015; 2:13.
51. Christensen LD, Holst M, Bech LF et al. Comparison of complications associated with peripherally inserted central catheters and Hickman catheters in patients with intestinal failure receiving home parenteral nutrition. Six-year follow up study. *Clin Nutr* 2016; 35(4):912—917.

Глава 24.

Алгоритмы коррекции дозы препаратов при проведении кондиционирования

В России, как и во всем мире, за последние 20 лет наблюдается существенный рост людей с избыточной массой тела. По данным Алферовой и соавт., среди мужчин распространенность ожирения выросла с 10,8% в 1993 г. до 27,9% в 2017 г., а среди женщин — с 26,4% до 31,8% соответственно [1]. У пациентов с онкологическими заболеваниями ожирение чаще ассоциируется с общей и специфической смертностью. Кроме того, пациенты с ожирением страдают сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями и сахарным диабетом, что в значительной степени влияет на осложнения во время химиотерапии и, способствует росту летальности. Фармакокинетика лекарственных препаратов, включая цитостатики, различается у пациентов с избытком массы тела и нормальным весом, что обусловлено как изменением почечного и печеночного клиренса, так и увеличением объема распределения липофильных препаратов и повышенным связыванием с белками [2, 3]. Это создает определенные трудности в корректном расчете доз для пациентов с ожирением.

Пациенты с дефицитом массы тела также требуют пристального внимания. Низкомикробная диета, которой в настоящее время рекомендуется придерживаться пациентам на интенсивных курсах химиотерапии, в значительной степени ограничивает рацион питания и вле-

чет за собой дефицит макро- и микронутриентов и, как следствие, потерю массы тела. При этом доказательная база по эффективности такой диеты весьма сомнительна. В последние годы появляется все больше данных о том, что риск инфицирования у пациентов с полноценным рационом питания и пациентов, придерживающихся нейтропенической диеты, одинаков, при этом преимущества полноценного питания очевидны [4, 5]. Выраженный эметогенный эффект цитостатиков также приводит к снижению аппетита либо полному его отсутствию и, как следствие, потере массы тела, что может сказываться на переносимости цитостатической терапии.

При проведении трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) дозы препаратов часто близки к летальным или являются летальными, и некорректный расчет, а именно избыточная или недостаточная доза химио- и иммунопрепаратов, может существенно повлиять как на непосредственные, так и отдаленные результаты лечения. В частности, при недостаточной терапевтической дозе бусульфана чаще отмечено развитие рецидива заболевания, а также реакции «трансплантат против хозяина». При избыточной же дозе повышен риск развития веноокклюзионной болезни печени (синдром синусоидальной обструкции) [6—8].

Для расчета доз цитостатических препаратов в режимах кондиционирования перед трансплантацией принято либо использовать площадь поверхности тела (ППТ/BSA), либо рассчитывать дозу в миллиграммах на килограмм, исходя из фактического веса пациента. И если коррекция дозы у пациентов с нормальной массой или ее дефицитом трудностей не представляет, то у пациентов с избыточной массой тела часто возникают сложности.

Из-за опасений передозировки цитостатических препаратов многие центры, как в России, так и за рубежом, придерживаются практики расчета доз на так называемую идеальную массу тела (ИМТ/IBW, ideal body weight) либо используют скорректированный идеальный вес тела (AIBW), либо ограничивают площадь поверхности тела до 2,0 м². Однако в ряде клинических исследований было показано, что такой способ «коррекции» приводит к снижению эффективной терапевтической дозы цитостатиков и закономерно влечет за собой ухудшение результатов лечения [9—11].

В 2014 г. эксперты Американского общества клинической онкологии (ASCO), основываясь на совокупных данных актуальных клинических исследований, опубликовали рекомендации по расчету и коррекции доз цитостатиков для пациентов, получающих различные режимы кондиционирования перед алло-ТГСК. Дозы большинства химиопрепаратов рекомендуется рассчитывать исходя из актуального веса паци-

ента. Однако для таких препаратов, как этопозид и бусульфан, в режимах, где расчет производится на килограмм массы тела, эксперты рекомендуют использовать формулу СКВ25 (ABW25), так называемого скорректированного веса (табл. 1) [19, 20].

Таблица 1. Основные понятия, используемые при расчете доз цитостатиков

Русский термин	Английский термин	Сокращение (англ.)	Значение
Индекс массы тела	Body mass index	ИМТ (BMI)	$\text{ИМТ} = \text{Вес, кг} / \text{Рост}^2, \text{ м}^2$
Площадь поверхности тела	Body surface area	ППТ (BSA)	Рассчитанная математически поверхность человеческого тела
Идеальный вес	Ideal body weight	ИБ (IBW)	Значение веса пациента, которое должно быть при условии нормального соотношения безжировой и жировой массы. Мужчины: ИБ, кг = $50 + 0,9 \times (\text{Рост, см} - 152)$. Женщины: ИБ, кг = $45,5 + 0,9 \times (\text{Рост, см} - 152)$
Реальный вес	Total body weight	РВ (TBW)	Вес при взвешивании
Сухой вес	Lean body weight	СВ (LBW)	Значение веса пациента за вычетом массы имеющейся в теле жировой ткани
Скорректированный вес 25	Adjusted body weight – 25	СКВ25 (ABW25)	$\text{СКВ25} = \text{ИБ} + 0,25 \times (\text{РВ} - \text{ИБ})$
Скорректированный вес 40	Adjusted body weight – 40	СКВ40 (ABW40)	$\text{СКВ40} = \text{ИБ} + 0,4 \times (\text{РВ} - \text{ИБ})$
Скорректированный вес 50	Adjusted body weight – 50	СКВ50 (ABW50)	$\text{СКВ50} = \text{ИБ} + 0,5 \times (\text{РВ} - \text{ИБ})$

Расчет по указанной формуле, согласно рекомендациям, нужно производить всем пациентам, независимо от веса. Следует учитывать, что у пациентов с дефицитом массы тела при использовании данной формулы доза цитостатиков будет выше, чем при подсчете на актуальную массу тела. Поясняя свою логику, эксперты ASCO ссылаются на данные одного клинического исследования, целью которого была попытка оценить влияние веса пациента на риск безрецидивной смертности. Дозы бусульфана в режиме предтрансплантационного кондиционирования были рассчитаны на реальную массу тела у всех пациентов, независимо от избытка или дефицита веса. Таким образом,

пациенты с избыточной массой тела получили дозы препарата больше рассчитанной по ИМТ, пациенты с нормальной массой получили дозы, близкие к рассчитанной по ИМТ, а пациентам с дефицитом массы вводилась доза ниже, чем из расчета по ИМТ. После оценки результатов в каждой из трех групп оказалось, что ни в одной из групп не было различий по частоте развития посттрансплантационных осложнений, однако риск рецидива заболевания был достоверно выше в группе с индексом массы тела менее $< 85\%$ от ИМТ, то есть у пациентов с дефицитом веса. Данный факт может косвенно указывать на то, что не были достигнуты целевые дозы цитостатиков [11–15, 19, 20].

Таким образом, вопрос о коррекции дозы бусульфана в режимах кондиционирования до сих пор остается дискуссионным, на настоящий момент наш центр придерживается позиции целесообразности коррекции дозы независимо от дефицита или избытка массы по формуле SKB25 (ABW25) (табл. 1).

Анализ имеющейся на текущий момент литературы и клинических исследований, показывает, что среди мировых центров, занимающихся алло-ТГСК, по-прежнему наблюдается значительная гетерогенность в коррекции доз бусульфана как у пациентов с ожирением, так и у пациентов с нормальной массой тела. В 2019 г. рабочей группой Европейского общества по трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток крови (EBMT), изучающей осложнения после трансплантации, были опубликованы результаты анализа анонимного опроса, в котором приняли участие 109 центров, занимающихся алло-ТГСК. Целью данного опроса было изучение особенностей дозирования бусульфана в режимах кондиционирования [16].

Анализ данных опроса показал, заметную неоднородность современной практики применения бусульфана для кондиционирования по таким показателям, как способ введения, количество ежедневных доз, использование измерений фармакокинетики и коррекции доз у пациентов с ожирением. В частности, корректировку доз пациентам с ожирением проводит около 75% центров. При этом способы корректировки дозы различались, но наиболее часто использовалась формула SKB25 (ABW25) [16].

Следует отметить, что в последние годы зарубежными коллегами активно используется внутривенная форма препарата, что, несомненно, является крайне удобным как для пациента, так и для медицинского персонала. Выгодное отличие внутривенной формы заключается в простоте введения, отсутствии проблем, вызванных раздражением желудочно-кишечного тракта, более точном дозировании, позволяющем избежать вариабельной абсорбции из кишечника и, следовательно, из-

меняющейся биодоступности, а также избежать первичного метаболизма в печени [17, 18].

Кроме того, последние исследования показывают, что внутривенное введение бусульфана 1 раз в сутки, не имеет различий в отдаленных результатах лечения по сравнению с четырехкратным введением, что также является несомненным преимуществом. Однако на территории РФ указанная лекарственная форма была зарегистрирована не так давно и пока что активно используется только в педиатрической практике [17, 18].

Также в мире набирает популярность терапевтический лекарственный мониторинг. Эта опция позволяет отслеживать в динамике достижение терапевтической дозы бусульфана у каждого пациента и корректировать ее в зависимости от определяемой площади под фармакологической кривой (AUC). В некоторых рандомизированных проспективных клинических исследованиях фармакокинетически контролируемое дозирование бусульфана привело к снижению риска рецидива и смертности, связанной с лечением, а также к более высокой общей и безобъёмной выживаемости по сравнению с введением фиксированных доз [12, 15, 19].

Однако ввиду ограниченного количества таких исследований, а также значительной гетерогенности их технического исполнения эксперты до сих пор не пришли к единому мнению о необходимости использования этого метода в отношении коррекции дозы бусульфана у всех пациентов и видят целесообразность использования терапевтического лекарственного мониторинга только у детей или при использовании высоких доз цитостатика [20].

Таким образом, ввиду отсутствия доказательств высокого риска краткосрочной и долгосрочной токсичности у пациентов с избытком массы, мы придерживаемся тактики расчета дозы цитостатиков, в режимах предтрансплантационного кондиционирования, на реальный вес тела пациента, а при коррекции доз бусульфана расчет производим по формуле СКВ25 (табл. 1).

В табл. 2 представлены обобщенные рекомендации по коррекции доз препаратов при проведении предтрансплантационного кондиционирования.

После расчета параметров непосредственно перед началом кондиционирования проводится оценка потребности в коррекции того или иного препарата.

Таблица 2. Коррекция доз препаратов при проведении предтрансплантационного кондиционирования

Препарат	Режимы применения	Вес, используемый в расчетах дозы препаратов, или ППТ	
		РВ превышает ИВ менее чем на 120%	РВ превышает ИВ более чем на 120%
АТГ (лошадиный)	Все	РВ	
АТГ (кроличий)	Все	РВ	
Бусульфан	Все	СКВ25	
Карбоплатин	Все	РВ	
Кармустин	Все	РВ	СКВ25
Клофарабин	Все	РВ	
Мелфалан	Все	РВ	
Тиотепа	Все	РВ	СКВ40
Флюдарабин	Все	РВ	
Циклофосфамид	В режимах, где применяется циклофосфамид в курсовой дозе 200 мг/кг	Из РВ и ИВ выбирают наименьший	Из РВ и ИВ выбирают наименьший
	В режимах, где применяется циклофосфамид в курсовой дозе 120 мг/кг	Из РВ и ИВ выбирают наименьший	СКВ25
Цитарабин	Все	РВ	
Этопозид	Все	При расчете на килограмм веса (доза в мг/кг) используется СКВ25. При расчете дозы с использованием ППТ (доза в мг/м ²) для расчета ППТ используется РВ	

Литература

1. Алферова В. И., Мустафина С. В. Распространенность ожирения во взрослой популяции Российской Федерации (обзор литературы). Ожирение и метаболизм 2022; 19(1):96—105. DOI: 10.14341/omet12809.
2. Krenitsky J. Adjusted body weight, pro: evidence to support the use of adjusted body weight in calculating calorie requirements. Nutr Clin Pract 2005; 20(4):468—473. DOI: 10.1177/0115426505020004468.
3. Gibbs JP, Gooley T, Corneau B et al. The impact of obesity and disease on busulfan oral clearance in adults. Blood 1999; 93(12):4436—4440.
4. Matteucci S, De Pasquale G, Pastore M et al. Low-bacterial diet in cancer patients: a systematic review. Nutrients 2023; 15(14):3171. DOI: 10.3390/nu15143171.
5. Toenges R, Greinix H, Lawitschka A et al. Current practice in nutrition after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation — Results from a survey among hematopoietic stem cell transplant centers. Clin Nutr 2021; 40(4):1571—1577. DOI: 10.1016/j.clnu.2021.02.030.

6. Perkins JB, Kim J, Anasetti C et al. Maximally tolerated busulfan systemic exposure in combination with fludarabine as conditioning before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(7):1099—1107. DOI: 10.1016/j.bbmt.2011.12.584.
7. Ljungman P, Hassan M, Békássy A et al. High busulfan concentrations are associated with increased transplant-related mortality in allogeneic bone marrow transplant patients. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20:909—913. DOI: 10.1038/sj.bmt.1700994.
8. Salvaris R, Salman S, O'Halloran S et al. Evaluating the efficacy, toxicity and pharmacokinetic profile of oral busulfan in allogeneic stem cell transplant patients. *Blood Cell Ther* 2022; 5(2):61—68. DOI: 10.31547/bct-2021-019.
9. Huang H, Liu Q, Zhang X et al. External evaluation of population pharmacokinetic models of busulfan in Chinese adult hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Front Pharmacol* 2022; 13:835037. DOI: 10.3389/fphar.2022.835037.
10. Slattery JT, Sanders JE, Buckner CD et al. Graft-rejection and toxicity following bone marrow transplantation in relation to busulfan pharmacokinetics. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16(1):31—42. Erratum in: *Bone Marrow Transplant* 1996; 18(4):829.
11. Le Blanc K, Ringdén O, Remberger M. A low body mass index is correlated with poor survival after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2003; 88(9):1044—1052.
12. Andersson BS, de Lima MJ, Saliba RM et al. Pharmacokinetic dose guidance of IV busulfan with fludarabine with allogeneic stem cell transplantation improves progression free survival in patients with AML and MDS; results of a randomized phase III study. *Blood* 2011; 118(21):892. DOI: 10.1182/blood.
13. Griffin SP, Wheeler SE, Wiggins LE et al. Pharmacokinetic and clinical outcomes when ideal body weight is used to dose busulfan in obese hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2019; 54:218—225. DOI: 10.1038/s41409-018-0240-3.
14. Deeg HJ, Seidel K, Bruemmer B et al. Impact of patient weight on non-relapse mortality after marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15(3): 461—468.
15. Klyuchnikov E, Langebrake C, Badbaran A et al. Individualized busulfan dosing improves outcomes compared to fixed-dose administration in pre-transplant minimal residual disease-positive acute myeloid leukemia patients with intermediate-risk undergoing allogeneic stem cell transplantation in CR. *Eur J Haematol* 2023; 110(2):188—197. DOI: 10.1111/ejh.13893.
16. Ruutu T, van der Werf S, van Biezen A et al. Use of busulfan in conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults: a survey by the Transplant Complications Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2019; 54:2013—2019. DOI: 10.1038/s41409-019-0579-0.
17. Clemmons AB, Evans S, DeRemer DL, Awan FT. Busulfan dosing (Q6 or Q24) with adjusted or actual body weight, does it matter? *J Oncol Pharm Pract* 2015; 21(6):425—432. DOI: 10.1177/1078155214541571.

18. Wang Y, Kato K, Le Gallo C et al. Dosing algorithm revisit for busulfan following IV infusion. *Cancer Chemother Pharmacol* 2015; 75:505—512. DOI: 10.1007/s00280-014-2660-0.
19. Palmer J, McCune JS, Perales MA et al. Personalizing busulfan-based conditioning: Considerations from the American Society for Blood and Marrow Transplantation practice guidelines committee. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(11):1915—1925. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.07.013.
20. Bubalo J, Carpenter PA, Majhail N et al. Conditioning chemotherapy dose adjustment in obese patients: a review and position statement by the American Society for Blood and Marrow Transplantation practice guideline committee. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(5):600—616. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.01.019.

Глава 25.

Фармакологические основы биологических эффектов посттрансплантационного циклофосфамида

Некоторое время назад полное соответствие донора и реципиента по системе HLA считалось догмой для трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), поскольку это позволяло «биологически» ограничить частоту развития таких опасных осложнений, как реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и несостоятельность трансплантата [1]. Однако даже сегодня, несмотря на широкое развитие донорских регистров, лишь 30% пациентов имеют полностью совместимого донора, что сильно ограничивает доступность данного метода лечения. По этой причине было предпринято много попыток разработать безопасный протокол трансплантации от частично совместимых и гаплоидентичных доноров, которые, к сожалению, не приводили к улучшению выживаемости больных — смертность от тяжелой РТПХ оставалась крайне высокой и превышала 50% [2]. Тем не менее последние достижения в исследовании иммунной толерантности, индуцированной циклофосфамидом, привели к созданию метода профилактики РТПХ на основе этого препарата, что позволило приблизить показатели выживаемости после алло-ТГСК от частично совместимого донора к таковым при полностью совместимой трансплантации [3, 4].

Химические и фармакологические свойства циклофосамида

Циклофосамид — это один из самых успешных синтетических противоопухолевых препаратов. Первые клинические испытания циклофосамида по лечению злокачественных опухолей были проведены в 1958 г., а уже в 1959 г. он стал восьмым цитотоксическим препаратом, одобренным FDA [5]. Сегодня, спустя 60 лет после создания, его по-прежнему широко используют в клинической практике в качестве химиотерапевтического и иммуномодулирующего препарата [6].

Химические и фармакологические свойства циклофосамида очень важны для понимания его широкого спектра применения. Циклофосамид относится к классу алкилирующих средств — производных иприта. Так, попытки синтезировать более селективный аналог азотсодержащих ипритов путем модификации химической структуры привели к появлению циклофосамида [7, 8]. Рациональный дизайн циклофосамида основывался на создании неактивной молекулы — пролекарства, которое бы превращалось в N-иприт преимущественно в пуле опухолевых клеток за счет расщепления связи фосфор—азот (P—N) фосфамидазой, экспрессия которой повышена в опухолевых клетках [9]. Однако после того, как была продемонстрирована высокая клиническая эффективность циклофосамида, было также показано, что основная активация циклофосамида происходит не за счет фосфамидазы, а с помощью цитохрома P450 в печени путем образования 4-гидроксициклофосамида, который по своей химической природе образует равновесную таутомерную ациклическую форму — альдофосфамид (рис. 1). Эти соединения легко проникают в клетку путем диффузии через клеточную мембрану, и затем альдофосфамид спонтанно разлагается с образованием акролеина и активного алкилятора — фосфорамида. Нужно заметить, что фосфорамид при физиологических значениях pH представлен в виде цвиттер-иона, из-за чего практически не может проникать внутрь клетки. Таким образом, относительно неполярные 4-гидроксициклофосамид и альдофосфамид служат для «доставки» активного фосфорамида в клетки, где он и проявляет свои цитотоксические свойства за счет образования внутри- и межцепочечных сшивок в ДНК, в то время как акролеин является основной причиной такого серьезного побочного явления, как геморрагический цистит [10].

Однако альдофосфамид внутри клетки также может окисляться ферментом альдегиддегидрогеназой (ALDH) до неактивного карбоксифосфамида. Семейство ALDH состоит по крайней мере из 17 раз-

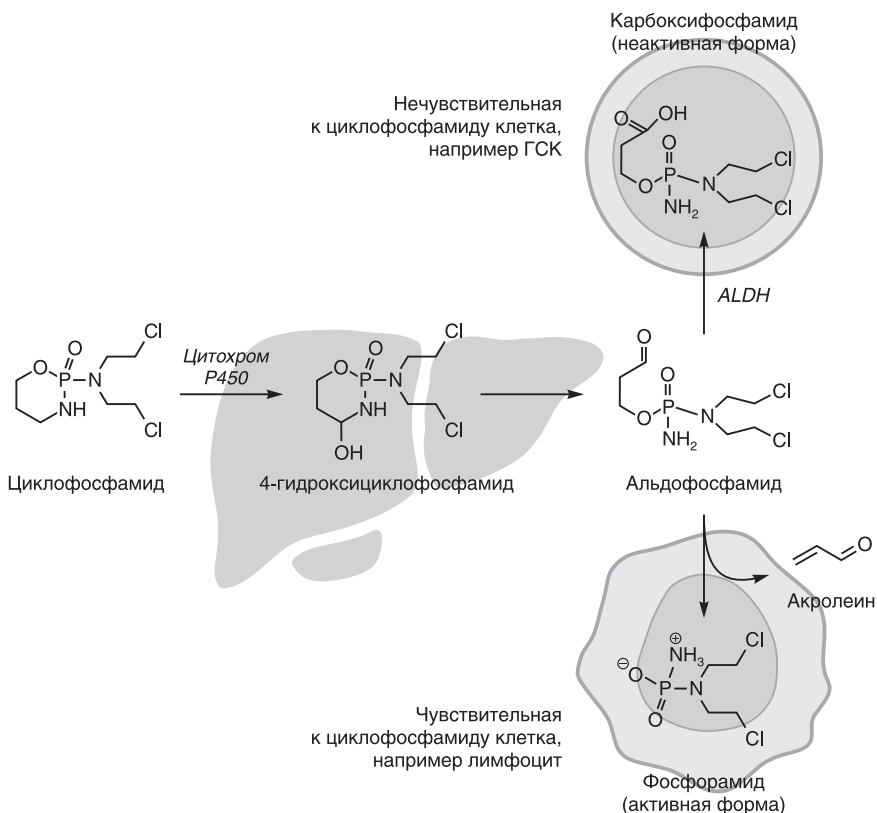


Рисунок 1. Метаболизм циклофосфида. Циклофосфамид метаболизируется системой цитохрома P450 в печени с образованием 4-гидроксициклофосфида, который находится в равновесии со своим таутомером, альдофосфамидом. Эти два промежуточных метаболита легко проникают в клетки, но не проявляют цитотоксичных свойств. В зависимости от типа клетки альдофосфамид либо разлагается с образованием цитотоксичного фосфорамида и побочного продукта — акролеина, либо окисляется до неактивного метаболита карбоксифосфида с помощью альдегиддегидрогеназы (ALDH). Последняя реакция происходит в клетках с высоким уровнем ALDH, например в гемопоэтических стволовых клетках (ГСК).

личных ферментов. Эти НАДФ-зависимые ферменты окисляют алифатические и ароматические альдегиды в соответствующие карбоновые кислоты. Считается, что за детоксикацию альдофосфида, главным образом, ответственна изоформа ALDH1A1. Основная функция этого фермента заключается в биосинтезе ретиноевой кислоты из ретинола: после того как алкогольдегидрогеназа окисляет ретинол в ретинальдегид, ALDH1A1 окисляет ретинальдегид в ретиноевую кисло-

ту, которая необходима для клеточной дифференцировки и роста [11]. Именно поэтому клетки с высоким пролиферативным потенциалом, особенно клетки слизистой кишечника и гемопоэтические стволовые клетки, экспрессируют высокие уровни ALDH1A1 и, как следствие, относительно устойчивы к циклофосфамиду. И наоборот, циклофосфамид цитотоксичен для зрелых предшественников кроветворных клеток, в том числе лимфоцитов, которые содержат ALDH1A1 в низкой концентрации [12]. Таким образом, циклофосфамид оказывает меньшее побочное действие на костный мозг и ЖКТ, чем, например, мелфалан. После циклофосфамида возможно развитие временной лейкопении, однако случаев развития необратимой аплазии костного мозга не было зафиксировано.

Иммуносупрессивные свойства циклофосфамида

Помимо цитотоксических эффектов, циклофосфамид проявляет иммуномодулирующие свойства, в частности иммуносупрессивные. Было выделено три основных механизма, с помощью которых циклофосфамид способен предотвращать такое иммунологическое посттрансплантационное осложнение, как РТПХ [13]. Первый, называемый клональной деплецией, заключается в селективном удалении пролиферирующих аллореактивных Т-клеток (как донора, так и хозяина), которые образовались в первые дни после алло-ТГСК. Важно отметить, что при этом деплецируется клон наивных, а не эффекторных Т-клеток или клеток памяти, с сохранением Т-регуляторных клеток, что приводит к более быстрому и качественному восстановлению иммунитета после ТГСК и, как следствие, к уменьшению частоты развития посттрансплантационных инфекционных осложнений [14, 15]. Далее через несколько недель или месяцев включается второй механизм — центральная толерантность. В основе третьего и самого отсроченного механизма — периферической толерантности — лежит экспансия толерогенного супрессорного клона Т-регуляторных клеток [16]. В связи с повышенным содержанием ALDH эта популяция не погибает при действии циклофосфамида и обладает долгим временем жизни, что способствует более быстрой реконституции иммунной системы и снижению риска развития РТПХ на более поздних сроках после алло-ТГСК.

Описанные выше свойства циклофосфамида легли в основу протокола индукции толерантности при несовместимой по системе HLA трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). В *in vivo* экспериментах был разработан режим введения циклофосфамида после трансплантации и показано, что при введении цик-

лофосфамида в ближайшие дни после трансфузии ГСК отторжение не происходило более длительное время, а также снижалась частота и тяжесть РТПХ [16]. Эти многообещающие результаты послужили основанием для проведения клинических исследований по использованию циклофосфамида в гаплоидентичных алло-ТГСК у пациентов с неблагоприятным прогнозом. Так, в статье 2008 г. Luznik et al. опубликовали способ деплеции аллореактивных Т-клеток у реципиентов гапло-ТГСК, позволивший успешно достичь приживления трансплантата и свести к минимуму развитие РТПХ [17]. Этот метод применения циклофосфамида был назван «посттрансплантационным циклофосфамидом» (ПТЦФ) и заключался в введении высоких доз циклофосфамида (50 мг/кг) на 3-й и 4-й дни после инфузии аллогенных ГСК. Такой подход позволил получить сопоставимые данные по частоте РТПХ как при HLA-идентичных, так и при гаплоидентичных ТГСК [18].

Токсические эффекты

Дозировка и, следовательно, профиль токсичности циклофосфамида сильно варьируют в зависимости от показаний. Низкие дозы циклофосфамида вызывают меньше нежелательных явлений в ранние сроки после применения, но длительное его использование (> 6 месяцев) может приводить к существенной «хронической» токсичности. И наоборот, применение высоких доз циклофосфамида приводит к развитию острой токсичности, но также уменьшает риск хронических токсических эффектов [19].

Гематологическая токсичность

Миелосупрессия — это наиболее распространенный, дозозависимый токсический эффект циклофосфамида. Глубокая панцитопения развивается после приема высоких доз циклофосфамида, однако в течение 2—3 недель у пациентов с нормальным резервом костного мозга происходит восстановление показателей гемограммы. Такая же ситуация характерна и при использовании донорских ГСК, что на практике наблюдается при проведении алло-ТГСК с использованием ПТЦФ.

Кардиотоксичность

Кардиотоксичность — это дозолимитирующий эффект циклофосфамида. Как правило, он возникает после лечения высокими дозами и имеет различную степень проявлений: от клинически незначимых до фатальных. Примерно у 45% реципиентов ГСК наблюдается преходящая бессимптомная левожелудочковая недостаточность, вызванная

циклофосфамидом [20]. Также могут возникать пароксизмы аритмии и небольшие плевральные и перикардialные выпоты. В некоторых случаях развивались симптомы застойной сердечной недостаточности, но эти явления носили обратимый характер. Наиболее тяжелой формой кардиотоксичности циклофосфамида является геморрагический некротический перикардит и миокардит, частота встречаемости которого, как сообщается, менее 1—9% [21]. Однако в большинстве трансплантационных центров частота геморрагического миокардита составляет менее 0,1%. Данный синдром возникает внезапно через несколько дней после инфузии циклофосфамида и приводит к гибели пациентов. Перикардит и миокардит проявляются тяжелой застойной сердечной недостаточностью, снижением вольтажа на ЭКГ, кардиомегалией, плевральным и перикардialным выпотами [22].

Уротоксичность

Самое частое осложнение после использования циклофосфамида со стороны мочевыделительной системы — геморрагический цистит [23], но также были описаны случаи развития фиброза мочевого пузыря или переходноклеточного или плоскоклеточного рака.

Геморрагический цистит может возникнуть в ранние или поздние сроки после введения циклофосфамида. Ранний геморрагический цистит, как уже было описано, вызван накоплением в мочевом пузыре продукта метаболизма циклофосфамида — акролеина [24]. Для уменьшения уротоксичности акролеина используют массивную инфузионную нагрузку, форсированный диурез, а также препарат Месна (2-меркаптоэтансульфоновая кислота), который, взаимодействуя с акролеином, нейтрализует его. Геморрагический цистит на более поздних сроках после введения циклофосфамида возникает у 20—25% пациентов и в большинстве случаев имеет вирусную этиологию (ВК/JS-вирусы или аденовирусы) вследствие вторичного иммунодефицита больного [25]. Также возможно развитие бактериального и смешанного (как вирусного, так и бактериального) геморрагического цистита. По данным НМИЦ гематологии МЗ РФ, у 14,6% реципиентов алло-ТГСК был диагностирован геморрагический цистит. При этом геморрагический цистит вирусной этиологии встречался в 46,9% случаев, бактериальной — в 11,7%, а у 14,7% пациентов был установлен смешанный геморрагический цистит. Достоверным фактором риска развития геморрагического цистита является выполнение алло-ТГСК от неродственного частично совместимого или гаплоидентичного донора ($p = 0,002$) [26].

Клинические исследования по применению ПТЦФ при трансплантации аллогенных ГСК

Во многих трансплантационных центрах комбинация препаратов такролимус/метотрексат (Тас/МТХ) остается стандартом профилактики острой РТПХ (оРТПХ), несмотря на свою ограниченную эффективность (40—60% реципиентов развивают оРТПХ II—IV степени), в то время как многие исследования уже убедительно продемонстрировали, что высокая доза циклофосфида, введенная на ранних сроках после ТГСК, не влияет на приживление трансплантата и уменьшает риск хронической РТПХ (хРТПХ). В 2008 г. Luznik et al. впервые исследовали ПТЦФ в сочетании с такролимусом и микофенолата мофетилем (MMF) в качестве профилактики РТПХ. В этой работе была показана эффективность двукратного введения ПТЦФ (на 3-й и 4-й день после алло-ТГСК) в комбинации с Тас/MMF (с 5-го дня после алло-ТГСК) в трансплантации гаплоидентичного костного мозга после кондиционирования в режиме пониженной интенсивности. Кумулятивные частоты оРТПХ II—IV и III—IV степени были 34% и 6% соответственно, а частота хРТПХ составила только 5% [17].

В многоцентровом исследовании II фазы BMT CTN 1203 изучалась эффективность трех режимов профилактики РТПХ: Тас/MMF/ПТЦФ, Тас/МТХ/бортезомиб и Тас/МТХ/маравирик в сравнении с контрольной группой Тас/МТХ. В этой работе лишь при использовании комбинации Тас/MMF/ПТЦФ было показано достоверное увеличение выживаемости без РТПХ и рецидива по сравнению с контролем (43% и 34%, $p = 0,04$; ОР 0,72; 90% ДИ 0,54—0,94) [27]. В многоцентровом исследовании NOVON-96 III фазы было проведено сравнение эффективности циклоспоринсодержащих схем профилактики РТПХ в HLA-идентичной родственной и неродственной ТГСК: проводили сравнение комбинаций ПТЦФ/циклоспорин (CSA) и CSA/MMF. Было показано, что использование схемы ПТЦФ/CSA достоверно снижает вероятность развития острой и хронической РТПХ, не влияя на вероятность развития рецидива, что приводит к повышению выживаемости без РТПХ и рецидива (45% против 21%, $p < 0,001$) [28]. В российском одноцентровом исследовании проводили сравнение эффективности ПТЦФ/Тас/MMF и антитимоцитарного иммуноглобулина (АТГ) в сочетании с Тас/MMF(МТХ) при неродственной полностью и частично совместимой трансплантации ГСК [29]: кумулятивная частота острой РТПХ II—IV степени (19% против 45%, $p = 0,0003$), III—IV степени (4% против 27%, $p < 0,0001$) и хРТПХ (16% против 65%, $p < 0,0001$) была значительно ниже в группе ПТЦФ по

сравнению с группой АТГ. Также в когорте с ПТЦФ-содержащей профилактикой РТПХ достоверно ниже был показатель смертности без рецидива (16% против 36%, $p = 0,005$; ОР 0,55; 95% ДИ 0,34—0,89) и более высокие показатели общей выживаемости (69% против 40%, $p = 0,0007$; ОР 0,43; 95% ДИ 0,26—0,70), бессобытийной выживаемости (65% против 38%, $p = 0,0006$; ОР 0,49; 95% ДИ 0,31—0,78) и выживаемости без РТПХ и рецидива (52% против 12%, $p < 0,0001$).

В свою очередь были проведены исследования по оценке эффективности ПТЦФ в качестве единственного препарата для профилактики РТПХ. Так, в проспективном исследовании II фазы (2010 г.), в котором выполняли HLA-идентичные трансплантации костного мозга после кондиционирования в миелоаблативном режиме (бусульфан/циклофосфамид), высокодозный циклофосфамид вводили на 3-й и 4-й дни после алло-ТГСК в качестве единственного иммуносупрессивного препарата [30]. Кумулятивная частота оРТПХ II—IV степени, оРТПХ III—IV степени и хРТПХ составили 43%, 10% и 10% соответственно. В другом многоцентровом исследовании 2014 г. была показана эффективность ПТЦФ (на 3-й и 4-й дни после HLA-идентичной трансплантации костного мозга) после кондиционирования в миелоаблативном режиме по схеме флударабин/бусульфан [31]. Суммарная частота оРТПХ II—IV степени, оРТПХ III—IV степени и хРТПХ составила 51%, 15% и 14% соответственно. Таким образом, ПТЦФ в качестве единственного иммуносупрессивного препарата эффективен для профилактики РТПХ после полностью совместимых ТГСК при использовании костного мозга в качестве источника стволовых клеток.

Однако позже в исследовании Bradstock et al. 2015 г. была показана низкая эффективность ПТЦФ в качестве единственного препарата для профилактики РТПХ при трансплантации ГСК от полностью совместимых доноров [32]. Эти результаты подтверждаются также в исследовании EBMT [33], в котором 423 пациента с острым лейкозом были рандомизированы на три группы по схеме профилактики РТПХ: 78 пациентов получили только ПТЦФ (группа 1), 204 — ПТЦФ в сочетании с одним иммуносупрессантом: CSA, или MTX, или MMF (группа 2), 141 — ПТЦФ в сочетании с двумя препаратами: CSA + MTX или CSA + MMF (группа 3). Вероятность двухлетней общей выживаемости в группах 1—3 составила 50%, 52,2% и 62,4% ($p = 0,06$) соответственно. В многофакторном анализе показано, что добавление к ПТЦФ двух препаратов ассоциировано с уменьшением риска развития тяжелой хРТПХ (ОР 0,25, $p = 0,02$) и увеличением общей выживаемости (ОР 0,49, $p = 0,02$). Таким образом, для усиления эффектов ПТЦФ после HLA-идентичных трансплантаций ГСК необходимо добавление иммуносупрессивных препаратов [34].

Начиная с 2008 г. ПТЦФ активно изучается в различных одноцентровых и многоцентровых клинических исследованиях. Проведенные испытания показали эффективность и управляемый профиль безопасности ПТЦФ. Таким образом ПТЦФ стал стандартом профилактики РТПХ при алло-ТГСК.

Литература

1. Powles RL, Morgenstern GR, Kay HE et al. Mismatched family donors for bone-marrow transplantation as treatment for acute leukaemia. *Lancet* 1983; 1(8325):612—615. DOI: 10.1016/S0140-6736(83)91793-2.
2. Szydlo R, Goldman JM, Klein JP et al. Results of allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings. *J Clin Oncol* 1997; 15(5):1767—1777. DOI: 10.1200/JCO.1997.15.5.1767.
3. McCurdy SR, Luznik L. How we perform haploidentical stem cell transplantation with posttransplant cyclophosphamide. *Blood* 2019; 134:1802—1810. DOI: 10.1182/blood.2019001323.
4. Bacigalupo A, Dominietto A, Ghiso A et al. Unmanipulated haploidentical bone marrow transplantation and post-transplant cyclophosphamide for hematologic malignancies following a myeloablative conditioning: an update. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50:S37—S39. DOI: 10.1038/bmt.2015.93.
5. Chaurasia M, Singh R, Sur S, Flora SJS. A review of FDA approved drugs and their formulations for the treatment of breast cancer. *Front Pharmacol* 2023; 14:1184472. DOI: 10.3389/fphar.2023.1184472.
6. Emadi A, Jones RJ, Brodsky RA. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6:638—647. DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.146.
7. Friedman OM, Seligman AM. Preparation of N-phosphorylated derivatives of bis- β -chloroethylamine. *J Am Chem Soc* 1954; 76:655—658. DOI: 10.1021/ja01632a006.
8. Brock N, Wilmanns H. Wirkung eines zyklischen N-Lost-Phosphamidesters auf experimentell erzeugte Tumoren der Ratte. *Dtsch med Wochenschr* 1958; 83: 453—458. DOI: 10.1055/s-0028-1114243.
9. Zimmer H, Sill AD. Nitrogen mustards derived from diazaphosphole-2-oxide. *Naturwissenschaften* 1962; 49:256. DOI: 10.1007/BF00601418.
10. Boddy AV, Yule SM. Metabolism and pharmacokinetics of oxazaphosphorines. *Clin Pharmacokinet* 2000; 38(4):291—304. DOI: 10.2165/00003088-200038040-00001.
11. Duester G. Genetic dissection of retinoid dehydrogenases. *Chem Biol Interact* 2001; 130—132:469—480. DOI: 10.1016/S0009-2797(00)00292-1.
12. Jones RJ, Barber JP, Vala MS et al. Assessment of aldehyde dehydrogenase in viable cells. *Blood* 1995; 85:2742—2746. DOI: 10.1182/blood.V85.10.2742.bloodjournal85102742.
13. Kato K, Takeuchi A, Akashi K, Eto M. Cyclophosphamide-induced tolerance in allogeneic transplantation: from basic studies to clinical application. *Front Immunol* 2020; 10:3138. DOI: 10.3389/fimmu.2019.03138.

14. Попова Н. Н., Савченко В. Г. Реконституция Т-клеточного звена иммунной системы у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология* 2020; 65:24—38. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-24-38.
15. Михальцова Е. Д., Попова Н. Н., Дроков М. Ю. и др. Влияние режимов профилактики РТПХ на восстановление клеточного звена иммунной системы у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Медицинская иммунология* 2021; 23:1125—1136.
16. Mayumi H, Umesue M, Nomoto K. Cyclophosphamide-induced immunological tolerance: an overview. *Immunobiology* 1996; 195:129—139. DOI: 10.1016/S0171-2985(96)80033-7.
17. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(6):641—650. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.03.005.
18. McCurdy SR, Kasamon YL, Kanakry CG et al. Comparable composite endpoints after HLA-matched and HLA-haploidentical transplantation with posttransplantation cyclophosphamide. *Haematologica* 2017; 102:391—400. DOI: 10.3324/haematol.2016.144139.
19. Dussán KB, Magder L, Brodsky RA et al. High dose cyclophosphamide performs better than monthly dose cyclophosphamide in quality of life measures. *Lupus* 2008; 17:1079—1085. DOI: 10.1177/0961203308093828.
20. Murdych T, Weisdorf D. Serious cardiac complications during bone marrow transplantation at the University of Minnesota, 1977—1997. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28:283—287. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703133.
21. Cazin B, Gorin NC, Laporte JP. Cardiac complications after bone marrow transplantation. A report on a series of 63 consecutive transplantations. *Cancer* 1986; 57:2061—2069. DOI: 10.1002/1097-0142(19860515)57:10<2061::aid-cnrcr2820571031>3.0.co;2-h.
22. Hertenstein B, Stefanic M, Schmeiser T et al. Cardiac toxicity of bone marrow transplantation: predictive value of cardiologic evaluation before transplant. *J Clin Oncol* 1994; 12:998—1004. DOI: 10.1200/JCO.1994.12.5.998.
23. Stillwell TJ, Benson RC. Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis: A review of 100 patients. *Cancer* 1988; 61:451—457. DOI: 10.1002/1097-0142(19880201)61:3<451::aid-cnrcr2820610308>3.0.co;2-g.
24. Cox PJ. Cyclophosphamide cystitis — Identification of acrolein as the causative agent. *Biochem Pharmacol* 1979; 28:2045—2049. DOI: 10.1016/0006-2952(79)90222-3.
25. Apperley JF, Rice SJ, Bishop JA et al. Late-onset hemorrhagic cystitis associated with urinary excretion of polyoma viruses after bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987; 43:108—112. DOI: 10.1097/00007890-198701000-00024.
26. Васильева В. А., Паровичникова Е. Н., Дроков М. Ю. и др. Этиологические особенности геморрагического цистита после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия* 2018; 20:232—238.

27. Bolaños-Meade J, Reshef R, Fraser R et al. Three prophylaxis regimens (tacrolimus, mycophenolate mofetil, and cyclophosphamide; tacrolimus, methotrexate, and bortezomib; or tacrolimus, methotrexate, and maraviroc) versus tacrolimus and methotrexate for prevention of graft-versus-host disease with haemopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning: a randomised phase 2 trial with a non-randomised contemporaneous control group (BMT CTN 1203). *Lancet Haematol* 2019; 6:e132—e143. DOI: 10.1016/S2352-3026(18)30221-7.
28. Broers AEC, de Jong CN, Bakunina K et al. Posttransplant cyclophosphamide for prevention of graft-versus-host disease: results of the prospective randomized HOVON-96 trial. *Blood Adv* 2022; 6:3378—3385. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021005847.
29. Moiseev IS, Pirogova OV, Alyanski AL et al. Graft-versus-host disease prophylaxis in unrelated peripheral blood stem cell transplantation with post-transplantation cyclophosphamide, tacrolimus, and mycophenolate mofetil. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22:1037—1042. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.03.004.
30. Luznik L, Bolaños-Meade J, Zahurak M et al. High-dose cyclophosphamide as single-agent, short-course prophylaxis of graft-versus-host disease. *Blood* 2010; 115:3224—3230. DOI: 10.1182/blood-2009-11-251595.
31. Kanakry CG, O'Donnell PV, Furlong T. Multi-institutional study of post-transplantation cyclophosphamide as single-agent graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation using myeloablative busulfan and fludarabine conditioning. *J Clin Oncol* 2014; 32:3497—505. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.0625.
32. Bradstock KF, Bilmon I, Kwan J et al. Single-agent high-dose cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis in human leukocyte antigen-matched reduced-intensity peripheral blood stem cell transplantation results in an unacceptably high rate of severe acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21:941—944. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.01.020.
33. Ruggeri A, Labopin M, Bacigalupo A et al. Post-transplant cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis in HLA matched sibling or matched unrelated donor transplant for patients with acute leukemia, on behalf of ALWP-EBMT. *J Hematol Oncol* 2018; 11:40. DOI: 10.1186/s13045-018-0586-4.
34. Дроков М. Ю., Паровичникова Е. Н., Кузьмина Л. А. и др. Трансплантация аллогенного костного мозга без проведения предтрансплантационного кондиционирования с использованием циклофосфида и мезенхимальных стромальных клеток в качестве индукции толерантности. *Гематология и трансфузиология* 2014; 59:42—46.

Глава 26.

Иммунологически обоснованные протоколы предтрансплантационной подготовки и профилактики РТПХ при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, коррекция и отмена иммуносупрессивной терапии

Появление универсальных, иммунологически обоснованных протоколов кондиционирования и профилактики РТПХ обусловлено следующим:

1. Попыткой унифицировать и стандартизировать режимы кондиционирования и профилактики РТПХ, так как использование разнообразных режимов кондиционирования и профилактики РТПХ делает практически невозможным анализ долгосрочных результатов ввиду крайне высокой гетерогенности группы.
2. Осложнениями, связанными с применением лошадиного антилимфоцитарного иммуноглобулина (АТГ). Препарат оказывает сильное влияние на последующую реконституцию иммунной системы пациентов после алло-ТГСК. Все больше исследований, в том числе и проведенные в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, демонстрируют отрицательное влияние АТГ на восстановление всех звеньев иммунитета [1—3]. В различных исследованиях было показано, что отсроченное восстановление не только Т-клеточного звена, но и моноцитов, В-клеток и других иммунокомпетентных клеток увеличивает риск развития тяжелых инфекций и рецидива заболевания у пациентов после алло-ТГСК [4—6].

3. Результаты использования лошадиного АТГ. Показано, что использование лошадиного АТГ влияет на экспансию регуляторных Т-клеток, что само по себе может провоцировать развитие РТПХ, поэтому для достижения результатов, сравнимых с применением кроличьего АТГ, в режимы профилактики РТПХ требуется включение дополнительной иммуносупрессивной терапии [7]. Это подтверждают клинические данные о том, что использование лошадиного АТГ увеличивает риск острой и хронической РТПХ в два раза по сравнению с кроличьим [7].
4. Исследованиями Михальцовой и соавт. [8], Поповой и соавт. [9], проведенными в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, которые показали, что различные режимы профилактики РТПХ по-разному воздействуют на Т-клеточное звено иммунной системы в ранние сроки после алло-ТГСК. Значимо меньшее количество наивных Т-клеток периферической крови на ранних сроках после алло-ТГСК при использовании циклофосфида после трансплантации свидетельствует о его более «агрессивном воздействии» на Т-клеточное звено иммунной системы по сравнению с АТГ, что является необходимым и препятствует развитию острой РТПХ.
5. Работой Дубняк и соавт. [10], проведенной в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, в которой было показано, что при использовании лошадиного АТГ доля Т-клеток (CD4+CD25-, CD4+CD25+) с хозяйским генотипом после алло-ТГСК значимо больше по сравнению с применением циклофосфида, что в дальнейшем приводит к развитию поздней острой РТПХ.
6. Результаты лабораторных исследований, где было показано, что циклофосфамид в высоких дозах оказывает действие на пролиферирующие аллореактивные донорские Т-лимфоциты и не активен в отношении гемопоэтических клеток предшественников, так как в них экспрессируется фермент альдегиддегидрогеназа, ответственный за метаболизм циклофосфида [11]. Таким образом, стволовые клетки резистентны к его воздействию. Помимо стволовых клеток крови, высоким уровнем экспрессии альдегиддегидрогеназы обладают также активированные регуляторные Т-клетки, которые отвечают за защиту от РТПХ [12–14]. Многочисленными публикациями и сообщениями не только за рубежом, но и в нашей стране [14–18].
7. Результаты исследований Дрокова и соавт. (неопубликованные данные), в которых было показано, что снижение доз циклофосфида после трансплантации с 50 до 25 мг/кг/сут на +3-й и +4-й дни не приводило к значимому изменению реконституции Т-клеточного звена иммунной системы после алло-ТГСК.

8. Данными по кумулятивной частоте острой РТПХ при применении посттрансплантационного циклофосфида в дозе 25 мг/кг/сут на +3-й и +4-й дни, которая была сравнима с частотой острой РТПХ при применении циклофосфида в дозе 50 мг/кг/сут на +3-й и +4-й дни, что было подтверждено при внедрении данного метода профилактики РТПХ в двух центрах (ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии, Республика Узбекистан) [19, 20].
9. Опыт применения посттрансплантационного циклофосфида с целью индукции толерантности в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, начиная с 2012 г. [16].

Литература

1. Rogacev KS, Zawada AM, Hundsdoerfer J et al. Immunosuppression and monocyte subsets. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30(1):143—53.
2. Döring M, Cabanillas Stanchi KM, Haufe S et al. Patterns of monocyte subpopulations and their surface expression of HLA-DR during adverse events after hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2015; 94(5): 825—836.
3. Roll P, Muhammad K, Stuhler G et al. Effect of ATG-F on B-cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol* 2015; 95(6): 514—523.
4. Kröger N, Zabelina T, Binder T et al. HLA-mismatched unrelated donors as an alternative graft source for allogeneic stem cell transplantation after antithymocyte globulin-containing conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15(4):454—462.
5. Bacigalupo A, Lamparelli T, Bruzzi P et al. Antithymocyte globulin for graft-versus-host disease prophylaxis in transplants from unrelated donors: 2 randomized studies from Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo (GITMO). *Blood* 2001; 98(10):2942—2947.
6. Remberger M, Ringdén O, Häggglund H et al. A high antithymocyte globulin dose increases the risk of relapse after reduced intensity conditioning HSCT with unrelated donors. *Clin Transplant* 2013; 27(4):E368—E374.
7. Kekre N, Antin JH. ATG in allogeneic stem cell transplantation: standard of care in 2017? Counterpoint. *Blood Adv* 2017; 1(9):573—576.
8. Михальцова Е. Д., Попова Н. Н., Дроков М. Ю. и др. Влияние режимов профилактики РТПХ на восстановление клеточного звена иммунной системы у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Медицинская иммунология* 2021; 23(5):1125—1136.
9. Попова Н. Н. Реконституция субпопуляций Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток: дис. ... канд. мед. наук. М., 2020.

10. Дубняк Д. С. Роль химеризма в субпопуляциях Т-хелперов у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток: дис. ... канд. мед. наук. М., 2023.
11. Tomita H, Tanaka K, Hisamatsu K, Hara A. The role of aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cancer stem cells. *Cancer Cell Microenvironment* 2015; 2(4):e1064.
12. Luznik L, Fuchs EJ. High-dose, post-transplantation cyclophosphamide to promote graft-host tolerance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Immunol Res* 2010; 47(1–3):65–77.
13. Bradstock KF, Bilmon I, Kwan J et al. Single-agent high-dose cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis in human leukocyte antigen-matched reduced-intensity peripheral blood stem cell transplantation results in an unacceptably high rate of severe acute graft-versus-host diseases. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(5):941–944.
14. Luznik L, Bolaños-Meade J, Zahurak M et al. High-dose cyclophosphamide as single-agent, short-course prophylaxis of graft-versus-host disease. *Blood* 2010; 115:3224–3230.
15. Luznik L, Donnell PVO, Symons HJ et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 14(6):641–650.
16. Дроков М. Ю., Паровичникова Е. Н., Кузьмина Л. А и др. Трансплантация аллогенного костного мозга без проведения предтрансплантационного кондиционирования с использованием циклофосфида и мезенхимальных стромальных клеток в качестве индукции толерантности. *Гематология и трансфузиология* 2014; 59(1):2–6.
17. Moiseev IS, Pirogova OV, Alyanski AL et al. Graft-versus-host disease prophylaxis in unrelated peripheral blood stem cell transplantation with post-transplantation cyclophosphamide, tacrolimus, and mycophenolate mofetil. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(6):1037–1042.
18. Luznik L, Jalla S, Engstrom LW et al. Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide. *Blood* 2001; 98(12):3456–3464.
19. Drovok M, Mikhaltsova E, Kuzmina L et al. Effective acute GVHD prophylaxis with “low-dose” post-transplantation cyclophosphamide in adults after related, unrelated, and haploidentical transplantations: multi country experience. *Blood Res* 2023; 58(S2):340.
20. Иноятлов А. Ш., Мусаев Б. А., Исламов М. С. и др. Ўзбекистон республикасида аллоген гемопоэтик ўзак хужайраларининг трансплантацияси бўйича амалий таъсири. Ташкент, 2023. 180 с.

Протоколы кондиционирования и профилактики реакции «трансплантат против хозяина»

Таблица 1. Схемы и режимы применения препаратов для кондиционирования и профилактики РТПХ для всех групп пациентов исключая апластическую анемию

Вид алло-ТГСК / режим кондиционирования	Профилактика РТПХ	Режим кондиционирования ² , ссылка на приложение (источник ГСК)					
		Флударабин, 150 мг/м ²					
Родственный HLA-идентичный донор / милоаблативный	—	ЦСА	MTX	Бусульфан, 8 мг/кг	Треосульфан, 36 г/м ²	Треосульфан, 42 г/м ²	Бусульфан, 12 мг/кг
				Тиотепа, 10 мг/кг	—	Мелфалан, 140 мг/м ²	—
Родственный HLA-идентичный донор / пониженной интенсивности	ПТ-ЦФ50/ ПТ-ЦФ25	—	—	1.2.1 (КМ)	1.2.3 (КМ)	—	1.1 (КМ/СКК)
				1.2.2 (СКК ³)	1.2.4 (СКК ³)	—	—
Неродственный HLA-идентичный донор / пониженной интенсивности	ПТ-ЦФ50/ ПТ-ЦФ25	ЦСА	ММФ30 ¹	2.1.1 (КМ)	2.1.3 (КМ)	—	—
				2.1.2 (СКК ³)	2.1.4 (СКК ³)	—	—
Неродственный частично совместимый или гаплоидентичный донор / пониженной интенсивности	ПТ-ЦФ50/ ПТ-ЦФ25	ЦСА	ММФ45 ¹	3.1.1 (СКК ³ / КМ)	3.1.2 (СКК ³ / КМ)	—	—
				3.1.3 (СКК ³ / КМ)	3.1.4 (СКК ³ / КМ)	—	—

¹ Максимальная суточная доза 3000 мг/сут.

² Указаны суммарные дозы препаратов.

³ Предпочтительный источник СКК, оптимальная доза 5–6 × 10⁶/кг CD34+ клеток.

ГСК — гемопоэтические стволовые клетки; КМ — костный мозг; ММФ30 — микрофенолата мофетил, 30 мг/кг/сут; ММФ45 — микрофенолата мофетил, 45 мг/кг/сут; MTX — метотрекат на +1, +3, +6, +11-й дни; ПТ-ЦФ25 — посттрансплантационный циклофосамид в суточной дозе 25 мг/кг; ПТ-ЦФ50 — посттрансплантационный циклофосамид в суточной дозе 50 мг/кг; СКК — стволовые клетки крови; ЦСА — циклоsporин А в суточной дозе 3 мг/кг.

Вид алло-ТГСК / режим кондиционирования	Схема профилактики	Препарат	Временные интервалы, дни после алло-ТГСК				
			До +30-го	С +31-го по +60-й	С +61-го по +90-й	С +91-го по +100-й	С +101-го по +180-й
Родственный HLA-идентичный донор / миелоаблативный	ЦСА + MTX	Циклоспорин	Терапевтическая доза (концентрация 200—300 нг/мл)			Постепенная отмена к +180-му дню	
Родственный HLA-идентичный донор / пониженной интенсивности	ПТ-ЦФ50 + ММФ30 / ПТ-ЦФ25 + ММФ30	Циклоспорин	Терапевтическая доза (концентрация 200—300 нг/мл)		Постепенная отмена к +100-му дню		
		Микофенолата мофетил	Полная отмена на +30-й день				
Неродственный HLA-идентичный донор / пониженной интенсивности	ПТ-ЦФ50 + ММФ30 / ПТ-ЦФ25 + ММФ30	Циклоспорин	Терапевтическая доза (концентрация 300—350 нг/мл)			Постепенная отмена к +180-му дню	
		Микофенолата мофетил	Полная отмена на +90-й день				
	ПТ-ЦФ50 + ММФ45 / ПТ-ЦФ25 + ММФ45	Циклоспорин	Терапевтическая доза (концентрация 300—350 нг/мл)			Постепенная отмена к +180-му дню	
		Микофенолата мофетил	Полная отмена на +90-й день				
Неродственный частично-совместимый или гаплоидентичный донор / пониженной интенсивности	ПТ-ЦФ50 + ММФ45 / ПТ-ЦФ25 + ММФ45	Циклоспорин	Терапевтическая доза (концентрация 300—350 нг/мл)			Постепенная отмена к +180-му дню	
		Микофенолата мофетил	Полная отмена на +90-й день				

ММФ30 — микофенолата мофетил, 30 мг/кг/сут; ММФ45 — микофенолата мофетил, 45 мг/кг/сут; MTX — метотрексат на +1-й день, +3, +6, +11-й дни; ПТ-ЦФ25 — посттрансплантационный циклофосфамид в суточной дозе 25 мг/кг; ПТ-ЦФ50 — посттрансплантационный циклофосфамид в суточной дозе 50 мг/кг; ЦСА — циклоспорин А в суточной дозе 3 мг/кг.

1. Родственный HLA-идентичный донор

1.1. Алло-ТГСК после кондиционирования в миелоаблативном режиме

Эта стандартная схема описывает предтрансплантационное кондиционирование и профилактику РТПХ у пациента при алло-ТГСК от родственного HLA-идентичного донора в миелоаблативном режиме. Схемы и режимы применения препаратов для кондиционирования и профилактики РТПХ указаны в приложении 1.1.1.

Приложение 1.1.1. Bu12 + Cy120 / CSA + MTX (KM/СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Бусульфан	4 мг/кг	12 мг/кг	С –6-го по –4-й день	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
	Циклофосфамид	60 мг/кг	120 мг/кг	–3-й и –2-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Профилактика РТПХ	Циклоспорин	3 мг/кг	–	С –1-го дня по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Метотрексат	15 мг/м ²	–	+1-й день	В/в, в 20 мл физиологического раствора (в 12:00)
		10 мг/м ²	–	+3, +6, +11-й дни	В/в, в 20 мл физиологического раствора (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Кальция фолинат	50 мг	–	+2, +4, +7, +12-й дни	В/в, в 20 мл физиологического раствора (в 12:00)
	Месна	120% от дозы циклофосфамида	–	–3-й и –2-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	–	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня включительно при инфицировании гепатитом В, С и/или тромбозах в анамнезе)	В/в, инфузия в течение 24 ч

Приложение 1.1.1 (окончание). Bu12 + Cy120 / CSA + MTX (KM/СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Сопроводительная терапия	Ондансетрон	24 мг	—	С —6-го по —1-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (в 7:00; 11:00; 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С —8-го по —1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С —8-го по —2-й день	Внутрь, 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам	10 мг	—	С —6-го по —2-й день	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С —6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1—2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				
KM — костный мозг; СКК — стволовые клетки крови.					

1.2. Алло-ТГСК в режиме пониженной интенсивности / пониженной токсичности

Эти схемы описывают предтрансплантационное кондиционирование и профилактику РТПХ у пациента при алло-ТГСК от родственного HLA-идентичного донора в режиме пониженной интенсивности. Схемы и режимы применения препаратов для кондиционирования и профилактики РТПХ указаны в приложениях 1.2.1–1.2.6.

Приложение 1.2.1. Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy (KM)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	50 мг/м ²	150 мг/м ²	С –4-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	–3-й и –2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
	Тиотепа	5 мг/кг	10 мг/кг	–6-й и –5-й дни	В/в, в течение 120 мин

Приложение 1.2.1 (окончание). Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy (КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С –6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С –8-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С –5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфамида до 25 мг/кг.
² В дни введения бусульфана и циклофосфамида.
КМ — костный мозг.

Приложение 1.2.2. Flul50 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF30 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	50 мг/м ²	150 мг/м ²	С –4-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	–3-й и –2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
	Тиотепа	5 мг/кг	10 мг/кг	–6-й и –5-й дни	В/в, в течение 120 мин
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
	Циклоспорин	3 мг/кг	–	С +5-го по +60-й день, затем постепенное снижение к +100-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	30 мг/кг	–	С +5-го по +30-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	–	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	–	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	–	С –6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	–	С –8-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	–	С –5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	–	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	–	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)

Приложение 1.2.2 (окончание). Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF30 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосамида до 25 мг/кг.
² В дни введения циклофосамида.
СКК — стволовые клетки крови.

Приложение 1.2.3. Flu150 + Treo36 / PT-Cy (KM)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	150 мг/м ²	С –6-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Треосульфат	12 г/м ²	36 г/м ²	С –6-го по –4-й день	В/в, в течение 2 ч
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосамида	–	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	–	С –7-го по +14-й день (до +28 дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	–	С –6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	–	С –8-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	–	С +1-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	–	+3-й и +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь

Приложение 1.2.3 (окончание). Flu150 + Treo36 / PT-Cy (КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Сопроводительная терапия	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфида до 25 мг/кг.
² В дни введения циклофосфида.
КМ — костный мозг.

Приложение 1.2.4. Flu150 + Treo36 / PT-Cy + CSA + MMF30 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	150 мг/м ²	С —6-го по —2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Треосульфат	12 г/м ²	36 г/м ²	С —6-го по —4-й день	В/в, в течение 2 ч
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +60-й день, затем постепенное снижение к +100 дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов > 1 × 10 ⁹ /л, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	30 мг/кг	—	С +5-го по +30-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфида (в 10:00)

Приложение 1.2.4 (окончание). Flu150 + Treo36 / PT-Cy + CSA + MMF30 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Сопроводительная терапия	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С –6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С –8-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С +1-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	+3-й и +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1—2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфида до 25 мг/кг.

² В дни введения циклофосфида.

СКК — стволовые клетки крови.

Приложение 1.2.5. Flu180 + Bu8 / PT-Cy (KM)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	180 мг/м ²	С –7-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	–3-й и –2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в инфузия в 500 мл физиологического раствора в течение 2 часов
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	–	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	–	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	–	С –7-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	–	С –9-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	–	С –5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	–	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	–	С –7-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)
	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
Профилактика инфекций	Противовирусная профилактика				

Приложение 1.2.5 (окончание). Flu180 + Bu8 / PT-Cy (КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика инфекций	Антибактериальная профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосамида до 25 мг/кг.					
² В дни введения бусульфана и циклофосамида.					
КМ — костный мозг.					

Приложение 1.2.6. Flu180 + Bu8 / PT-Cy + CSA + MMF30 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	180 мг/м ²	С –7-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	–3-й и –2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +60-й день, затем постепенное снижение к +100-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	30 мг/кг	—	С +5-го по +30-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч

Приложение 1.2.6 (окончание). Flu180 + Bu8 / PT-Cy + CSA + MMF30 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Сопроводительная терапия	Ондансетрон	24 мг	—	С –7-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С –9-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С –5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –7-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфида до 25 мг/кг.
² В дни введения бусульфана и циклофосфида.
СКК — стволовые клетки крови.

2. Неродственный HLA-идентичный донор

2.1. Алло-ТГСК в режиме пониженной интенсивности / пониженной токсичности

Эти схемы описывают предтрансплантационное кондиционирование и профилактику РТПХ у пациента при алло-ТГСК от неродственного HLA-идентичного донора в режиме пониженной интенсивности. Схемы и режимы применения препаратов для кондиционирования и профилактики РТПХ указаны в приложениях 2.1.1—2.1.6.

Приложение 2.1.1. Flul50 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF30 (KM)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	50 мг/м ²	150 мг/м ²	С —4-го по —2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	—3-й и —2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
	Тиотепа	5 мг/кг	10 мг/кг	—6-й и —5-й дни	В/в, в течение 120 мин
Профилактика РТПХ	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	30 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4 дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С —7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С —6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С —8-го по —1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С —5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут

Приложение 2.1.1 (окончание). Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF30 (КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Сопроводительная терапия	Диазепам ²	10 мг	—	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1—2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосамида до 25 мг/кг.
² В дни введения бусульфана и циклофосамида.
КМ — костный мозг.

Приложение 2.1.2. Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	50 мг/м ²	150 мг/м ²	С –4-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	–3-й и –2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
	Тиотепа	5 мг/кг	10 мг/кг	–6-й и –5-й дни	В/в, в течение 120 мин
Профилактика РТПХ	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	45 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема

Приложение 2.1.2 (окончание). Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С –6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С –8-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С –5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезокси-холевая кислота	12 мг/кг	—	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфамида до 25 мг/кг.

² В дни введения бусульфана и циклофосфамида.

СКК — стволовые клетки крови.

Приложение 2.1.3. Flu150 + Treo36 / PT-Cy + CSA + MMF30 (KM)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	150 мг/м ²	С –6-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Треосульфат	12 г/м ²	36 г/м ²	С –6-го по –4-й день	В/в, в течение 2 ч
Профилактика РТПХ	Циклоспорин	3 мг/кг	–	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	30 мг/кг	–	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	–	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	–	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	–	С –6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	–	С –7-го по –1-й день	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	–	С +1-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	–	+3-й и +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	–	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			

Приложение 2.1.3 (окончание). Flu150 + Treo36 / PT-Cy + CSA + MMF30 (КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика инфекций	Противовирусная профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Антибактериальная профилактика				
¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфида до 25 мг/кг. ² В дни введения циклофосфида. КМ — костный мозг.					

Приложение 2.1.4. Flu150 + Treo36 / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	150 мг/м ²	С –6-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Треосульфат	12 г/м ²	36 г/м ²	С –6-го по –4-й день	В/в, в течение 2 ч
Профилактика РТПХ	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	45 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч

Приложение 2.1.4 (окончание). Flu150 + Treo36 / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Сопроводительная терапия	Ондансетрон	24 мг	—	С —6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С —7-го по —1-й день	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С +1-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	+3-й и +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С —6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1—2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфида до 25 мг/кг.

² В дни введения циклофосфида.

СКК — стволовые клетки крови.

Приложение 2.1.5. Flu180 + Bu8 / PT-Cy + CSA + MMF30 (KM)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	180 мг/м ²	С –7-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	–3-й и –2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в инфузия в 500 мл физиологического раствора в течение 2 часов
	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов > 1 × 10 ⁹ /л, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь

Приложение 2.1.5 (окончание). Flu180 + Bu8 / PT-Cy + CSA + MMF30 (КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика РТПХ	Микофенолата мофетил	30 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С –7-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С –9-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С –5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –7-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1—2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфамида до 25 мг/кг.

² В дни введения бусульфана и циклофосфамида.

КМ — костный мозг.

Приложение 2.1.6. Flu180 + Bu8 / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	180 мг/м ²	С –7-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	–3-й и –2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в инфузия в 500 мл физиологического раствора в течение 2 часов
	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов > 1 × 10 ⁹ /л, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	45 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С –7-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С –9-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С –5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –7-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)

Приложение 2.1.6 (окончание). Flu180 + Bu8 / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				
¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосамида до 25 мг/кг. ² В дни введения бусульфана и циклофосамида. СКК — стволовые клетки крови.					

3. Неродственный частично совместимый или родственный гаплоидентичный донор

3.1. Алло-ТГСК в режиме пониженной токсичности и режиме пониженной интенсивности

Эти схемы описывают предтрансплантационное кондиционирование и профилактику РТПХ у пациента при алло-ТГСК от неродственного частично совместимого или гаплоидентичного донора в миелоаблативном режиме и режиме пониженной интенсивности. Схемы и режимы применения препаратов для кондиционирования и профилактики РТПХ указаны в приложениях 3.1.1—3.1.3.

Приложение 3.1.1. Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК/КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	50 мг/м ²	150 мг/м ²	С —4-го по —2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	—3-й и —2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
	Тиотепа	5 мг/кг	10 мг/кг	—6-й и —5-й дни	В/в, в течение 120 мин

Приложение 3.1.1 (продолжение). Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК/КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика РТПХ	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	45 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С –6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С –8-го по –1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С –5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	–3, –2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1–2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				

Приложение 3.1.1 (окончание). Flu150 + Bu8 + Thio / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК/КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика инфекций	Антибактериальная профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфида до 25 мг/кг.

² В дни введения бусульфана и циклофосфида.

КМ — костный мозг; СКК — стволовые клетки крови.

Приложение 3.1.2. Flu150 + Treo36 / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК/КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	150 мг/м ²	С –6-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Треосульфат	12 г/м ²	36 г/м ²	С –6-го по –4-й день	В/в, в течение 2 ч
Профилактика РТПХ	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов $> 1 \times 10^9/\text{л}$, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	45 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема
	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С –7-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С –6-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)

Приложение 3.1.2 (окончание). Flu150 + Treo36 / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК/КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Сопроводительная терапия	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С –7-го по –1-й день	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С +1-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	+3-й и +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С –6-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1—2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосамида до 25 мг/кг.
² В дни введения циклофосамида.
КМ — костный мозг; СКК — стволовые клетки крови.

Приложение 3.1.3. Flu180 + Bu8 / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК/КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Кондиционирование	Флударабин	30 мг/м ²	180 мг/м ²	С –7-го по –2-й день	В/в, в течение 30 мин
	Бусульфан	4 мг/кг	8 мг/кг	–3-й и –2-й дни	Внутрь, суммарная суточная доза разделяется на 4 приема
Профилактика РТПХ	Циклоспорин	3 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день, затем постепенное снижение к +180-му дню	В/в, 5-часовая инфузия 2 раза/сут. Перевод на прием внутрь при условии восстановления лейкоцитов > 1 × 10 ⁹ /л, при отсутствии тошноты, рвоты, диареи и возможности приема внутрь
	Микофенолата мофетил	45 мг/кг	—	С +5-го по +90-й день	Внутрь, суммарная суточная доза (не более 3000 мг/сут) разделяется на 2 приема

Приложение 3.1.3 (окончание). Flu180 + Bu8 / PT-Cy + CSA + MMF45 (СКК/КМ)

	Препарат	Суточная доза	Курсовая доза	Дни введения	Порядок введения
Профилактика РТПХ	Циклофосфамид ¹	50 мг/кг	100 мг/кг	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 2 ч (в 12:00)
Сопроводительная терапия	Месна	120% от дозы циклофосфамида	—	+3-й и +4-й дни	В/в, инфузия в течение 24 ч, начиная за 2 ч до введения циклофосфамида (в 10:00)
	Гепарин	12 000 ЕД	—	С —8-го по +14-й день (до +28-го дня при инфицировании гепатитом В, С)	В/в, инфузия в течение 24 ч
	Ондансетрон	24 мг	—	С —7-го по +4-й день	В/в, 8 мг 3 раза/сут (7:00, 11:00, 18:00)
	Аллопуринол	200 мг/м ²	—	С —9-го по —1-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 2 приема
	Карбамазепин	200 мг	—	С —5-го по +4-й день	Внутрь, по 100 мг 2 раза/сут
	Диазепам ²	10 мг	—	—3, —2, +3, +4-й дни	В/в, в 100 мл физиологического раствора на ночь
	Урсодезоксихолевая кислота	12 мг/кг	—	С —7-го по +180-й день	Внутрь, суточная доза разделяется на 1—2 приема (вечер или день и вечер)
Профилактика инфекций	Противогрибковая профилактика	Применяют протокол, принятый в данном трансплантационном центре			
	Противовирусная профилактика				
	Антибактериальная профилактика				

¹ Допускается снижение суточной дозы циклофосфамида до 25 мг/кг.
² В дни введения бусульфана и циклофосфамида.
 КМ — костный мозг; СКК — стволовые клетки крови.

**Мониторинг за пациентами
после трансплантации
аллогенных гемопоэтических
стволовых клеток и анализ
полученных данных**

Глава 27.

Констатация приживления и виды несостоятельности трансплантата после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Введение

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) — метод лечения гематологических, онкологических и аутоиммунных заболеваний, при котором пациенту после проведения предтрансплантационного кондиционирования вводят предварительно заготовленный костный мозг или гемопоэтические стволовые клетки от донора, который полностью или частично совместим с реципиентом по системе гистосовместимости [1—9], и осуществляет с помощью иммуносупрессивной терапии профилактику развития острой РТПХ.

Благодаря активному использованию гаплоидентичных доноров, увеличению донорских регистров и увеличению трансплантационной активности значительно улучшились показатели выживаемости после алло-ТГСК, однако наравне с этим развитие дисфункций трансплантата (несостоятельности) остается серьезной проблемой, ухудшающей общую выживаемость пациентов [10, 11].

Приживление трансплантата является ключевым моментом, влияющим на исход алло-ТГСК. При определении приживления в первую очередь говорят о восстановлении лейкоцитарного ростка, таким образом, днем приживления трансплантата считается первый из трех по-

следовательных дней восстановления абсолютного числа нейтрофилов (АЧН) $0,5 \times 10^9/\text{л}$ [1–3].

Приживление тромбоцитарного ростка — первый из 3 последовательных дней с количеством тромбоцитов $> 20 \times 10^9/\text{л}$ при отсутствии трансфузий тромбоконцентрата на протяжении 7 дней подряд.

Восстановление содержания гемоглобина не является классическим критерием приживления трансплантата, однако говорить о нормальной функции трансплантата без восстановления количества эритроцитов не представляется возможным. Так, днем «приживления» является первый из 7 последовательных дней, когда содержание гемоглобина $> 70 \text{ г/л}$ без зависимости от трансфузионной поддержки [3–7].

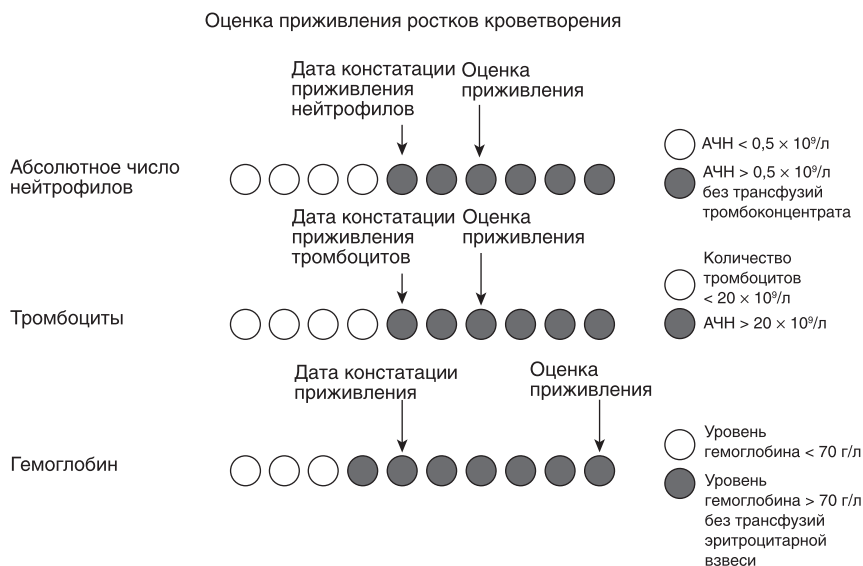


Рисунок 1. Оценка приживления ростков кроветворения.

Вторым ключевым моментом в оценке функции трансплантата является оценка химеризма. Полный донорский химеризм — это обнаружение > 95 – $99,9\%$ клеток в костном мозге / периферической крови, имеющих донорский генотип. Смешанный химеризм — это выявление 5 – 95% клеток в костном мозге / периферической крови, имеющих хозяйское происхождение. Отсутствие донорского химеризма — $< 5\%$ клеток с донорским генотипом. [3]. Американское общество по трансфузиологии и трансплантации костного мозга в 2001 г. определило, что среди пациентов с неопухолевыми заболеваниями крови стабильный смешанный химеризм может не подвергаться коррекции, а пациенты с

опухолевыми заболеваниями системы крови должны добиваться стойкого полного донорского химеризма в ранние сроки после алло-ТГСК.

Несостоятельность трансплантата — группа осложнений, которую характеризует двух- или трехростковая цитопения в сочетании с гипо- или аплазией костного мозга. Несостоятельность трансплантата после алло-ТГСК является третьей по значимости причиной смерти (1,5—2,5%) пациентов после РТПХ (2—6%) и инфекционных осложнений (6—13%) [1, 12]. Применение терминов, характеризующих нарушенную функцию трансплантата, в клинической практике остается неопределенным из-за отсутствия единых критериев в зарубежных источниках, отсутствия единой структуры установления диагноза, частого отсутствия разделения между первичными и вторичными развитиями цитопений.

Разделяют первичную и вторичную несостоятельность трансплантата, первичную и вторичную гипофункцию трансплантата, транзиторную гипофункцию трансплантата, а также отторжение трансплантата. Дополнительные трудности в установлении диагноза могут быть связаны со смешанной химерой, особенно в сочетании с цитопенией, которую часто принимают за гипофункцию трансплантата. Это в свою очередь приводит к ошибкам в постановке диагноза и неправильной тактике терапии.

Американское и европейское общества трансплантологов пришли к консенсусу, в соответствии с которым первичная несостоятельность трансплантата трактуется как отсутствие приживления трансплантата к +28-му дню после алло-ТГСК (двух- или трехростковая цитопения с трансфузионной зависимостью), на фоне отсутствия донорского кроветворения (100-процентное хозяйское кроветворение) и при условии отсутствия рецидива заболевания. В зарубежных источниках также встречается термин «неприживление трансплантата», что является синонимом первичной несостоятельности трансплантата.

Особым случаем первичной несостоятельности трансплантата является восстановление хозяйского кроветворения ($AЧН > 0,5 \times 10^9/л$). В случае, если восстановление АЧН наблюдается до момента оценки химеризма (до +28-го дня), оно может расцениваться как нормальная функция трансплантата, однако после оценки молекулярного химеризма, несмотря на восстановление показателей периферической крови, следует установить диагноз первичной несостоятельности трансплантата.

Частота развития первичной несостоятельности трансплантата широко варьирует, по разным данным составляя от 2% до 12,3%, причем у реципиентов с неопухолевыми заболеваниями системы крови частота развития первичной несостоятельности трансплантата в 3 раза выше [13—16]. Особенно опасно развитие первичной несостоятельности трансплантата после миелоаблативного кондиционирования, ког-

да вероятность восстановления собственного кроветворения практически отсутствует. Развитие первичной несостоятельности трансплантата существенно ухудшает общую выживаемость (ОВ). По данным Olson et al., 5-летняя ОВ составила 22% у реципиентов с развившейся первичной несостоятельностью трансплантата по сравнению с 53%, у которых было констатировано приживление трансплантата с донорским химеризмом [17].

Возврат цитопении с потерей донорского кроветворения в отсутствие рецидива заболевания, развившийся после приживления трансплантата с констатированным полным донорским химеризмом, принято называть вторичной несостоятельностью трансплантата. Частота развития вторичной несостоятельности трансплантата несколько ниже, чем первичной, и составляет 1,7–5% [11, 14]. Slot et al. оценили суммарную частоту развития первичной и вторичной несостоятельности трансплантата в когорте пациентов с первичным миелофиброзом, она составила 28% [18].

Отторжение трансплантата — доказанное иммуноопосредованное отторжение донорского аллотрансплантата остаточными эффекторными клетками хозяина, которое происходит из-за генетического несоответствия между реципиентом и донором [19]. Отторжение трансплантата встречается относительно редко, в 4–6% случаев, но также сопряжено с плохими показателями выживаемости.

Гипофункция трансплантата

Гипофункция трансплантата характеризуется двух- или трехростковой цитопенией, которая продолжается более 14 дней при наличии полного донорского химеризма ($> 95\%$). Гипофункция трансплантата подразделяется на первичную, вторичную и транзиторную. Частота развития гипофункции трансплантата широко варьирует и достигает от 1,5% до 33%, что связано с отсутствием единых критериев в разных трансплантационных центрах. [3, 6, 7, 20, 21]

Klyuchnikov et al. и Stasia et al. определяли гипофункцию трансплантата как по крайней мере двухростковую цитопению, когда количество нейтрофилов $< 1,5 \times 10^9/\text{л}$, уровень гемоглобина $< 85 \text{ г/л}$, количество тромбоцитов $< 30 \times 10^9/\text{л}$ [20, 22]. Halahleh et al. считали за гипофункцию содержание нейтрофилов $< 1,1 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобина $< 100 \text{ г/л}$, количество тромбоцитов $< 30 \times 10^9/\text{л}$. [23] Однако в более поздних работах, а так же по данным EBMT, за гипофункцию принято считать АЧН $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$, уровень гемоглобина $< 70 \text{ г/л}$, количество тромбоцитов $< 20 \times 10^9/\text{л}$ с трансфузионной зависимостью [3, 7, 21]. Обязательным критерием является отсутствие рецидива заболевания и наличие 100-процентного донорского кроветворения.

Первичная гипофункция трансплантата имеет неблагоприятный прогноз с 1-летней ОВ 25% и 2-летней ОВ 6% без восстановления кроветворной функции [24].

Вторичная гипофункция трансплантата характеризуется теми же критериями цитопении, что и первичная, которые развились *de novo* после констатации приживления трансплантата.

Суммарная частота развития всех видов гипофункции трансплантата варьирует от 5% до 33%, и так же, как и первичная несостоятельность трансплантата, она ассоциирована с высокими рисками инфекционных и геморрагических осложнений вследствие снижения уровня тромбоцитов и лейкоцитов [25—28]. Долгосрочный прогноз у пациентов с первичной гипофункцией трансплантата значительно хуже, чем у пациентов с нормальной функцией трансплантата (то есть приживление констатировано на фоне полного донорского кроветворения). Так, по данным Sun et al., 5-летняя ОВ составила 34,6% против 82,7% [19].

Наиболее «благоприятным» вариантом гипофункции трансплантата является транзиторная, которая может возникать под воздействием токсического воздействия лекарственных средств, таких как ганцикловир, линезолид, сульфаметоксазол/триметоприм, также развитие транзиторной гипофункции трансплантата может отмечаться на фоне РТПХ, бактериальных или вирусных инфекционных осложнений. При этом восстановление кроветворения наблюдается после устранения причины, которая привела к развитию цитопении: отмена миелотоксичных лекарственных средств, успешное лечение инфекционных осложнений и РТПХ. Данный вид гипофункции существенно не снижает общую выживаемость при успешном восстановлении показателей периферической крови при быстром устранении этиологического фактора [27—29]. Характеристика различных видов несостоятельности трансплантата, принятая в ФГБУ «НМИЦ гематологии», представлена в табл. 1.

Таблица 1. Характеристики различных видов несостоятельности трансплантата

Диагноз	Критерии постановки диагноза
Первичная несостоятельность (неприживление) трансплантата	1. Отсутствие приживления к +28-му дню: абсолютное число нейтрофилов $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$; уровень гемоглобина $< 70 \text{ г/л}$; число тромбоцитов $< 20 \times 10^9/\text{л}$. 2. Донорское кроветворение 0—5%. 3. Отсутствие рецидива заболевания
Вторичная несостоятельность трансплантата	1. Цитопения (критерии соответствуют первичной несостоятельности), которая развилась после инициального приживления. 2. Донорское кроветворение 0—5%. 3. Отсутствие рецидива заболевания

Таблица 1 (окончание). Характеристики различных видов несостоятельности трансплантата

Диагноз	Критерии постановки диагноза
Отторжение трансплантата	1. Первичная/вторичная несостоятельность с доказанным иммунным механизмом (обязательно наличие доказанных донор-специфичных анти-HLA антител)
Первичная гипофункция трансплантата	1. Двух- или трехростковая цитопения (число нейтрофилов $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов — $< 20 \times 10^9/\text{л}$, уровень гемоглобина $< 70 \text{ г/л}$, с зависимостью от трансфузионной терапии) длительностью не менее 2 недель, которая развилась на любом сроке после +28-го дня алло-ТГСК. 2. Донорское кроветворение 95—100%. 3. Гипоплазия/аплазия в костном мозге. 4. Отсутствие рецидива заболевания
Вторичная гипофункция трансплантата	1. Цитопения (критерии соответствуют первичной гипофункции трансплантата). 2. Инициально было констатировано приживление трансплантата
Транзиторная гипофункция трансплантата	1. Цитопения (критерии соответствуют первичной гипофункции трансплантата). 2. Развилась на фоне инфекционных осложнений, лекарственной токсичности. 3. Полностью разрешается при устранении этиологической причины
Смешанный химеризм с цитопенией	1. Цитопения. 2. Донорское кроветворение 5—95%

Факторы риска и лечение несостоятельности трансплантата

Факторы риска могут быть связаны с пациентом, донором, процедурой трансплантации. Основное заболевание (отсутствие ремиссии, высокие степени фиброза костного мозга, неопухолевые заболевания системы крови) — основные факторы риска со стороны пациента, причем два из них неизменяемые. Также повышают риски развития несостоятельности трансплантата и гипофункции трансплантата перегрузка железом, спленомегалия, наличие предрасполагающих анти-HLA антител. К факторам риска, связанным с донором, относят несоответствие по HLA и ABO между донором и реципиентом, низкое количество CD34+ клеток в трансплантате, и низкая клеточность трансплантата [1—3, 14, 17]. Трансплантационные факторы риска — использование режимов кондиционирования пониженной интенсивности, тяжелые вирусные и бактериальные инфекции в перитрансплантационном периоде.

Принимая во внимание множество факторов риска развития различных видов несостоятельности трансплантата, единого метода профилактики, который мог бы охватить все факторы риска, не существует. Так, на часть из факторов риска невозможно повлиять, другие возможно скорректировать лишь частично, и в редком случае возможно найти метод профилактики данной группы осложнений.

Лечение

Возможности терапии несостоятельности трансплантата остаются ограниченными из-за разнообразия факторов риска и, нередко, отсутствия единой причины развития несостоятельности трансплантата. При установлении диагноза несостоятельности трансплантата следует незамедлительно начать лечение в зависимости от вида несостоятельности.

Лечение как первичной, так и вторичной несостоятельности трансплантата сводится к единственному эффективному способу терапии — выполнению повторной трансплантации с целью быстрого восстановления кроветворения после потери донорского химеризма [30—32]. При наличии криоконсервированного аутологичного костного мозга возможно введение собственных клеток. Rondon et al. описали 7 пациентов, получивших аутологичный костный мозг с целью терапии первичной несостоятельности трансплантата, среди них 6 достигли восстановления собственного кроветворения и лишь один погиб до восстановления числа нейтрофилов [33]. Доступность ауто-трансплантата ограничена, а однолетняя ОВ после введения аутологичного костного мозга, по данным Schrieber et al., составила лишь 16% [34].

С целью восстановления кроветворения пациенту показана повторная алло-ТГСК в максимально короткие сроки. В большинстве случаев сложно быстро найти альтернативного неродственного донора, в связи с чем часто приходится прибегать к гаплоидентичным родственным донорам [35, 36]. Повторная алло-ТГСК всегда ассоциирована с более высоким риском развития инфекционных и геморрагических осложнений и накопления токсичности из-за длительного периода панцитопении, необходимости проведения повторного предтрансплантационного кондиционирования [37]. В группе с успешно выполненной второй алло-ТГСК однолетняя ОВ значимо ниже, чем в когорте пациентов без необходимости выполнения повторной алло-ТГСК вследствие первичной несостоятельности трансплантата.

Ciurea et al. рекомендуют относиться с особым вниманием к пациентам из группы риска по развитию гипопункции или несостоятель-

ности трансплантата, предварительно оценивая риски развития данного осложнения на более ранних сроках для раннего поиска подходящего метода терапии (3 недели после алло-ТГСК) [38]. В этой связи необходимы переоценка всех применяемых лекарственных средств для исключения лекарственной токсичности (например, линезолида, ацикловира, ганцикловира и т. д.), ранняя оценка аспирата костного мозга для выявления вирусных инфекций, вызванных герпесвирусом человека типа 6 (HHV6), парвовирусом, цитомегаловирусом (ЦМВ) и др., активация альтернативного донора, если восстановление кроветворения не достигнуто к +28-му дню после трансплантации, или повторная активация того же донора для сбора лимфоцитов или селектированных CD34+ клеток для проведения терапии пациентам с гипофункцией трансплантата [39, 40].

Пациенты с гипофункцией трансплантата имеют 100-процентное донорское кроветворение, несмотря на это были описаны попытки выполнения повторной алло-ТГСК от альтернативного донора с целью лечения данного осложнения, однако соотношение риск/польза в этом случае очень высокое. Так, повторное проведение предтрансплантационного кондиционирования приводит к накоплению токсичности и увеличивает риск развития геморрагических и инфекционных осложнений, особенно в ранние сроки после алло-ТГСК, значительно снижая общую выживаемость (от 20% до 60%). При успешном восстановлении кроветворения тяжелая РТПХ возникает у подавляющего большинства пациентов (66—100%) [41—44]. Таким образом, предпочтительнее прибегать к альтернативным, более безопасным методам терапии, восстанавливая сохраняющееся донорское кроветворение.

Методы восстановления кроветворения при сохранении донорского химеризма более разнообразны, к ним относятся введение CD34+ клеток, терапия агонистами тромбопоэтина, колониестимулирующими факторами.

Отмечались примеры применения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) с целью восстановления АЧН [28]. Как Г-КСФ, так и эритропоэтин временно увеличивают количество нейтрофилов, но эффект непродолжителен и после прекращения стимуляции у части пациентов вновь развивается цитопения.

Стимуляторы гемопоэза, такие как элтромбопаг и ромиплостим, применяются у пациентов с апластической анемией для восстановления кроветворения. Они также показали свою эффективность у пациентов с гипофункцией трансплантата [45]. Все чаще появляются отчеты о применении данной группы препаратов в качестве терапии гипофункции трансплантата. Элтромбопаг стимулирует ранние стадии мегакариопоэза, а также улучшает обновление стволовых клеток и уве-

личивает количество функциональных стволовых клеток за счет снижения содержания внутриклеточного железа, тогда как ромиплостим в основном стимулирует зрелые мегакариоцитарные предшественники [45]. Так, по разным данным, частота ответа даже при трехлинейной цитопении составляет от 57% до 72%. Удобство применения, относительно низкая стоимость препарата и хорошие результаты восстановления кроветворной функции приводят к расширению применения элтромбопага с целью терапии гипофункции трансплантата. Uria-Oficialdegui et al. сообщили, что при применении у детей препарат также показал высокую эффективность (частота ответа составила 80%) и низкую токсичность [45]. Доза препарата варьирует от 12,5 до 150 мг/сут, исследователи постепенно увеличивали дозу каждые 2—4 недели, доходя до оптимальной для получения ответа. Среднее время достижения ответа как у педиатрических, так и у взрослых пациентов составило 2 месяца. Uria-Oficialdegui et al. и Giammarco et al. выделили в своем исследовании 3 фактора, влияющие на частоту ответа на терапию: несовместимость донора и реципиента по HLA, начало терапии ранее +90-го дня после алло-ТГСК, клеточность трансплантата $< 4 \times 10^6/\text{кг}$ CD34⁺ клеток [45, 46]. Наличие любого из данных трех факторов приводило к более низкой частоте ответа на терапию (92% против 56% соответственно). Помимо высокой эффективности и широкой доступности, положительным эффектом применения элтромбопага является отсутствие необходимости повторной стимуляции донора [48—51].

Применение CD34⁺ селектированных клеток без предшествующего кондиционирования в настоящее время является наиболее перспективным и безопасным методом терапии гипофункции трансплантата. Селекция стволовых клеток снижает риски развития РТПХ наравне с эффективным восстановлением кроветворной функции и низкой токсичностью применяемого метода. Восстановление кроветворной функции значительно увеличивает 5-летнюю ОВ пациентов (74,4% против 16,7%) [52].

Naen et al. включили 20 взрослых пациентов с гипофункцией трансплантата после алло-ТГСК, 19 пациентам вводили CD34⁺ селектированные клетки от неродственных доноров и 1 вводились клетки гаплоидентичного донора [53]. Все пациенты достигли быстрого восстановления показателей крови, причем у 90% восстановление отмечалось в среднем через 14, 13 и 18 дней для тромбоцитов, лейкоцитов и гемоглобина соответственно. Среди реципиентов не наблюдалось какой-либо токсичности, связанной с лечением, осложнения, связанные с введением клеток, были ограничены (только у одного пациента развилась РТПХ).

Первичная гипофункция трансплантата характеризуется худшей общей выживаемостью и ответом на терапию. Так, по данным Kong et al., восстановления кроветворения у пациентов с первичной гипофункцией трансплантата после введения CD34+ селектированных клеток удалось добиться в 36% случаев, тогда как у пациентов с вторичной гипофункцией трансплантата кроветворная функция восстановилась в 69% случаев [48].

Chandra et al. в своем исследовании показали эффективность применения CD34+ селектированных клеток у пациентов со смешанным химеризмом [63]. В когорту вошли пациенты с неопухолевыми заболеваниями системы крови, с примесью хозяйского кроветворения от 3% до 60% (медиана 25%). После введения клеток от того же донора ответ был получен в 25% случаев, в 33% случаев стабилизировался уровень донорского химеризма. Эффективность данного метода терапии несколько ниже по сравнению с введением лимфоцитов донора, однако он более безопасен в связи с низким числом развития острой и хронической РТПХ [49].

Риск развития РТПХ при использовании селектированных CD34+ клеток значимо ниже, чем при использовании неманипулированных клеток, при более высокой эффективности восстановления кроветворения. Lagossa et al. не отметили появление острой РТПХ III–IV степени после применения селектированных клеток, тогда как при введении необработанных клеток частота ее составила 21% [54]. По данным Cuadrado et al., острая РТПХ после трансфузии лимфоцитов донора развилась у 11% пациентов, хроническая у 8% [52].

Для получения селектированных клеток необходима повторная стимуляция донора и выполнение лейкоцитафереза, с последующим выделением CD34+ клеток. Однако повторная активация донора не всегда возможна, в связи с чем Ghobadi et al. выделяли CD34+ клетки как из свежезаготовленного материала, так и из ранее заготовленного криоконсервированного продукта [50]. Эффективность применения свежих или заранее заготовленных клеток не различалась и составила 61% и 63% соответственно. Это показывает, что применение криоконсервированного продукта возможно для восстановления кроветворения, несмотря на небольшое количество пациентов ($n = 8$), это становится альтернативным вариантом у пациентов, чей донор не согласен на повторную стимуляцию кроветворения [50].

ОВ после применения селектированных CD34+ клеток была значимо выше, чем у пациентов с гипофункцией трансплантата, не получавших данной терапии, и составила 68% против 29% соответственно [22, 48, 51]. Характеристика наиболее распространенных методов терапии несостоятельности трансплантата приведена в табл. 2.

Таблица 2. Методы терапии различных видов несостоятельности трансплантата

Метод терапии	Положительные эффекты	Сложности терапии
Повторная алло-ТГСК	1. Восстановление кроветворения	1. Высокая токсичность вследствие повторного кондиционирования. 2. В части случаев — отсутствие альтернативного донора. 3. Время для поиска и заготовки трансплантата от неродственного донора. 4. Высокие риски РТПХ
Ауто-ТГСК	1. Быстрое и эффективное восстановление кроветворения	1. Невозможность заготовки ауто-КМ (например, при МОБ+статусе до ТКМ)
Агонисты тромбоцитиновых рецепторов	1. Высокая эффективность при двухростковой цитопении	1. Низкая эффективность при трехростковой цитопении. 2. Медленное развитие эффекта
CD34 ⁺ -селектированные клетки донора	1. Высокая эффективность даже при трехростковой цитопении. 2. Низкая частота развития осложнений	1. Необходимость повторной стимуляции донора. 2. Высокая стоимость
Трансфузия малых доз лимфоцитов донора	1. Доступность материала (криоконсервированные лимфоциты донора или отсутствие необходимости повторной стимуляции)	1. Малоизучено
Колонiestимулирующие факторы	1. В ряде случаев — быстрое восстановление кроветворения	1. Низкая эффективность. 2. Кратковременность эффекта

Ключевой задачей трансплантолога является правильная постановка диагноза для выбора оптимального метода терапии. Таким образом, для формулировки диагноза необходимо оценить сочетание двух факторов: восстановление кроветворения (то есть приживление трансплантата) и наличие донорского кроветворения. Алгоритм диагностики ки несостоятельности трансплантата представлен на рис. 2.

Первичная оценка проводится на +28-й день после алло-ТГСК, когда параллельно с оценкой приживления проводится оценка химеризма. Так, восстановление показателей периферической крови наряду с донорским кроветворением будет оцениваться как нормальная функция трансплантата.

При сохранении на +28-й день трехростковой цитопении с зависимостью от трансфузий и отсутствием донорского кроветворения констатируется первичная несостоятельность трансплантата. Восстановление показателей периферической крови при отсутствии донорского кроветворения также свидетельствует о первичной несостоятельности трансплантата.

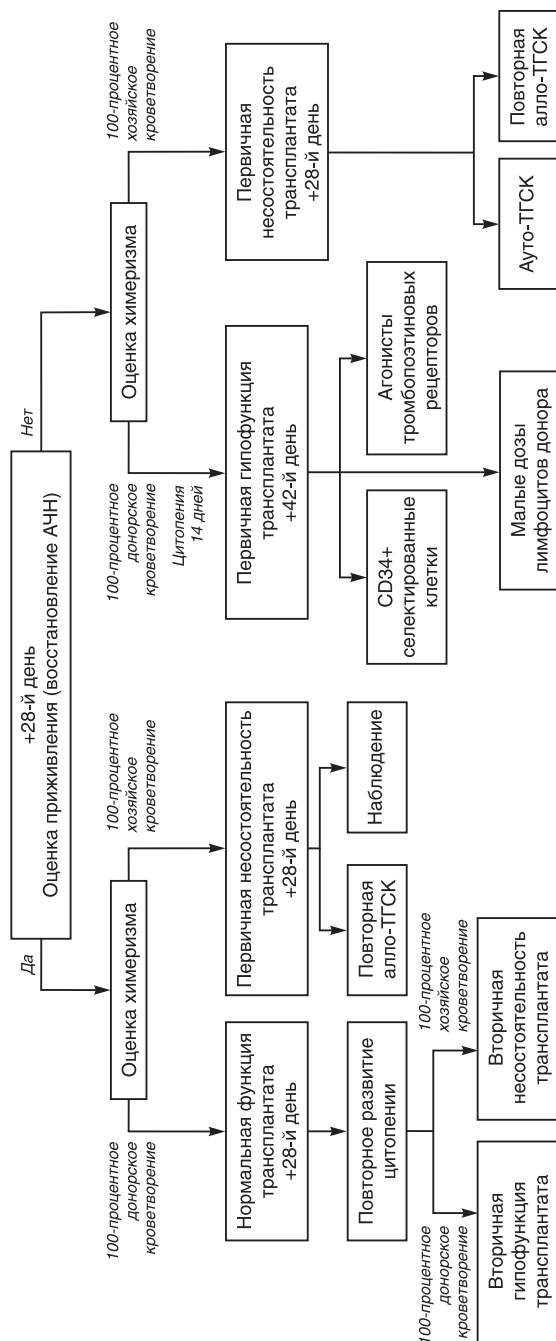


Рисунок 2. Алгоритм диагностики несостоятельности трансплантата.

Если при оценке молекулярного химеризма кроветворение донорское, но отсутствует приживление, следует дифференцировать транзиторную и первичную гипофункцию трансплантата. Если после переоценки всех миелотоксических препаратов оптимальным методом, купирования инфекционных и вирусных осложнений восстановление показателей не наступает к +42-му дню, констатируется первичная несостоятельность трансплантата. Разрешение цитопении говорит о транзиторной гипофункции трансплантата.

Наконец, повторное развитие цитопении в зависимости от результатов исследования молекулярного химеризма может быть вторичной гипофункцией трансплантата (при сохранении донорского кроветворения) или вторичной несостоятельностью трансплантата (при потере донорского кроветворения).

Отдельным пунктом следует отметить смешанный химеризм (5—95% донорского кроветворения), сочетающийся с цитопенией. Это не входит в группу несостоятельности трансплантата, а является отдельным диагнозом, требующим особого подхода. Суммарная характеристика критериев постановки диагноза дана в табл. 3.

Таблица 3. Критерии установления диагноза

	Приживление трансплантата	Донорский химеризм	Цитопения	Гипоплазия	РТПХ	Рецидив
Первичная несостоятельность	Нет	0—5%	Да	Да	Нет	Нет
Вторичная несостоятельность	Да	0—5%	Да	Да	Нет	Нет
Первичная гипофункция	Нет	95—100%	Да	Да	Нет	Нет
Вторичная гипофункция	Да	95—100%	Да	Да	Да/нет	Нет
Смешанный химеризм с цитопенией	Да/нет	5—95%	Да	Нет	Нет	Нет

Заключение

Авторы сходятся во мнении, что несостоятельность трансплантата — тяжелое осложнение, которое сопровождается значимым снижением ОВ за счет развития тяжелых инфекционных и геморрагических осложнений. Лечение таких пациентов является трудоемким и дорогостоящим процессом в связи с длительной трансфузионной зависимостью и необходимостью массивной антимикробной терапии. Выделить единую причину развития данного осложнения в части случаев не уда-

ется из-за множества факторов риска, на которые следует обращать внимание при планировании алло-ТГСК.

Для установления точного диагноза и выбора дальнейшей тактики лечения необходимо проведение исследования молекулярного химеризма на +28-й день после алло-ТГСК вне зависимости от наличия восстановления показателей периферической крови. Отсутствие приживления трансплантата и хозяйское кроветворение следует считать первичной несостоятельностью трансплантата и в максимально короткие сроки инициировать поиск альтернативного донора для восстановления кроветворения или выполнение ауто-ТГСК при наличии заготовленных аутологичных клеток. Отсутствие приживления при полном донорском химеризме относится к первичной гипофункции трансплантата, и терапией выбора в данном случае является введение CD34+ клеток от того же донора без предшествующего кондиционирования. Данный метод показал свою высокую эффективность и безопасность при низкой токсичности.

Потеря донорского химеризма с повторным развитием цитопении после первичного приживления определена как вторичная несостоятельность трансплантата. Как и в случае первичной несостоятельности трансплантата, следует незамедлительно приступить к подготовке повторной алло-ТГСК. При развитии цитопении при сохранении полного донорского химеризма следует говорить о вторичной гипофункции трансплантата. При наличии токсического воздействия (инфекция, лекарственные средства) следует незамедлительно пересмотреть лечение, при восстановлении показателей периферической крови гипофункция будет носить название транзиторной. В случае отсутствия восстановления показателей крови следует констатировать вторичную гипофункцию трансплантата и приступить к лечению осложнения.

Этиология развития несостоятельности трансплантата сложна и многофакторна, что требует оценки всех факторов риска при подготовке реципиента к трансплантации. Раннее выявление и начало лечения каждого вида несостоятельности трансплантата является основным принципом трансплантационного центра. При высоких рисках развития несостоятельности трансплантата следует провести заготовку аутологичного костного мозга и/или оценить наличие альтернативных родственных и неродственных доноров.

Развитие гипофункции трансплантата часто невозможно предугадать, и единого протокола профилактики не существует. Необходимо своевременно поставить диагноз и начать терапию.

Профилактика и лечение, оценка новых факторов риска остаются сложной задачей в работе гематолога-трансплантолога и требуют дальнейшего изучения.

Литература

1. Xu ZL, Cheng YF, Zhang YY et al. The incidence, clinical outcome, and protective factors of mixed chimerism following hematopoietic stem cell transplantation for severe aplastic anemia. *Clin Transplant* 2021; 35(2):e14160.
2. Huang XJ. Overcoming graft failure after haploidentical transplantation: Is this a possibility? *Best Pract Res Clin Haematol* 2021; 34(1):101255.
3. Kharfan-Dabaja MA, Kumar A, Ayala E et al. Standardizing Definitions of hematopoietic recovery, graft rejection, graft failure, poor graft function, and donor chimerism in allogeneic hematopoietic cell transplantation: A report on behalf of the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. *Transplant Cell Ther* 2021; 27(8):642–649.
4. Ren RR, Ma LM, Xie YX et al. Effect of donor lymphocyte infusion from two types of donors on mixed chimerism with secondary graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Cell Ther* 2022; 28(3):152.e1–152.e7.
5. Yoshihara S, Maruya E, Taniguchi K et al. Risk and prevention of graft failure in patients with preexisting donor-specific HLA antibodies undergoing unmanipulated haploidentical SCT. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47(4):508–515.
6. Alcazer V, Peffault de Latour R, Ader F, Labussière-Wallet H. Non-prise de greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques: définition et facteurs de risque identifiés. *Bull Cancer* 2019; 106(6):574–583.
7. Kong Y. Poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation — an old complication with new insights. *Semin Hematol* 2019; 56(3):215–220.
8. Alho AC, Kim HT, Chammas MJ et al. Unbalanced recovery of regulatory and effector T cells after allogeneic stem cell transplantation contributes to chronic GVHD. *Blood* 2016; 127(5):646–657.
9. Хамаганова Е. Г, Кузьмина Л. А. Опека HLA-совместимости и требования к HLA-типированию больного и донора при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология* 2019; 64(2):175–187.
10. Ciurea SO, Al Malki MM, Kongtim P et al. Treatment of allosensitized patients receiving allogeneic transplantation. *Blood Adv* 2021; 5(20):4031–4043.
11. Yahng SA, Park SS, Jeon YW et al. Successful outcomes of second hematopoietic stem cell transplantation with total nodal irradiation and ATG conditioning for graft failure in adult patients with severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53(10):1270–1277.
12. Ruutu T, Gratwohl A, De Witte T et al. Prophylaxis and treatment of GVHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standardized practice. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49(2):168–173.
13. Anasetti C, Amos D, Beatty PG et al. Effect of HLA compatibility on engraftment of bone marrow transplants in patients with leukemia or lymphoma. *N Engl J Med* 1989; 320(4):197–204.
14. Olsson R, Remberger M, Schaffer M et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48(4):537–543.

15. Lund TC, Liegel J, Bejanyan N et al. Second allogeneic hematopoietic cell transplantation for graft failure: Poor outcomes for neutropenic graft failure. *Am J Hematol* 2015; 90(10):892–896.
16. Remberger M, Mattsson J, Olsson R et al. Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a treatment for graft failure. *Clin Transpl* 2011; 25: 68–76.
17. Olsson RF, Logan BR, Chaudhury S et al. Primary graft failure after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancies. *Leukemia* 2015; 29(8):1754–1762.
18. Slot S, Smits K, Van De Donk NWCJ et al. Effect of conditioning regimens on graft failure in myelofibrosis: a retrospective analysis. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(11):1424–1431.
19. Sun YQ, He GL, Chang YJ et al. The incidence, risk factors, and outcomes of primary poor graft function after unmanipulated haploidentical stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2015; 94(10):1699–1705.
20. Klyuchnikov E, El-Cheikh J, Sputtek A et al. CD34+-selected stem cell boost without further conditioning for poor graft function after allogeneic stem cell transplantation in patients with hematological malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(3):382–386.
21. Chen J, Wang H, Zhou J et al. Advances in the understanding of poor graft function following allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Ther Adv Hematol* 2020; 11:2040620720948743.
22. Stasia A, Ghiso A, Galaverna F et al. CD34 selected cells for the treatment of poor graft function after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(9):1440–1443.
23. Halahleh K, Gale R, Da'na W et al. Therapy of posttransplant poor graft function with eltrombopag. *Bone Marrow Transplant* 2020; 56:4–6.
24. Zhao Y, Gao F, Shi J et al. Incidence, risk factors, and outcomes of primary poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25(9):1898–1907.
25. Ali H, Bacigalupo A. 2021 update on allogeneic hematopoietic stem cell transplant for myelofibrosis: A review of current data and applications on risk stratification and management. *Am J Hematol* 2021; 96(11):1532–1538.
26. Mohty R, Brissot E, Battipaglia G et al. CD34+-selected stem cell “Boost” for poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Res Transl Med* 2019; 67(3):112–114.
27. McLornan DP, Boluda JCH, Czerw T et al. Allogeneic haematopoietic cell transplantation for myelofibrosis: proposed definitions and management strategies for graft failure, poor graft function and relapse: best practice recommendations of the EBMT Chronic Malignancies Working Party. *Leukemia* 2021; 35(9): 2445–2459.
28. Bittencourt H, Rocha V, Filion A et al. Granulocyte colony-stimulating factor for poor graft function after allogeneic stem cell transplantation: 3 days of G-CSF identifies long-term responders. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36(5):431–435.

29. Tamari R, Ramnath S, Kuk D et al. Poor graft function in recipients of T cell depleted (TCD) allogeneic hematopoietic stem cell transplants (HSCT) is mostly related to viral infections and anti-viral therapy. *Blood* 2012; 120(21):3147.
30. Olsson R, Remberger M, Schaffer M et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2012; 48(4):537—543.
31. Woodard P, Tong X, Richardson S et al. Etiology and outcome of graft failure in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25(12):955—959.
32. Fleischhauer K, Locatelli F, Zecca M et al. Graft rejection after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation for thalassemia is associated with non-permissive HLA-DPB1 disparity in host-versus-graft direction. *Blood* 2006; 107(7):2984—2992.
33. Rondón G, Saliba RM, Khouri I et al. Long-term follow-up of patients who experienced graft failure postallogeneic progenitor cell transplantation. Results of a single institution analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(8): 859—866.
34. Schriber J, Agovi M-A, Ho V et al. Second unrelated donor hematopoietic cell transplantation for primary graft failure. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(8):1099—1106.
35. Albert MH, Sirin M, Hoenig M et al. Salvage HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide for graft failure in non-malignant disorders. *Bone Marrow Transplant* 2021; 56(9):2248—2258.
36. Philogene MC, Sikorski P, Montgomery RA et al. Differential effect of bortezomib on HLA class I and class II antibody. *Transplantation* 2014; 98(6):660—665.
37. Lund TC, Liegel J, Bejanyan N et al. Second allogeneic hematopoietic cell transplantation for graft failure: Poor outcomes for neutropenic graft failure. *Am J Hematol* 2015; 90(10):892—896.
38. Ciurea SO, Cao K, Fernandez-Vina M et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) consensus guidelines for the detection and treatment of donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) in haploidentical hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53(5):521—534.
39. Rattani N, Matheny C, Eckrich MJ et al. Parvovirus B19-associated graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Rep* 2022; 5(1):e1403.
40. Castagnola E, Cappelli B, Erba D et al. Cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation in children. *Hum Immunol* 2004; 65(5):416—422.
41. Guardiola P, Kuentz M, Garban F et al. Second early allogeneic stem cell transplantations for graft failure in acute leukaemia, chronic myeloid leukaemia and aplastic anaemia. French Society of Bone Marrow Transplantation. *Br J Haematol* 2000; 111:292—302.
42. Chewning JH, Castro-Malaspina H, Jakubowski A et al. Fludarabine-based conditioning secures engraftment of second hematopoietic stem cell allografts (HSCT) in the treatment of initial graft failure. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13:1313—1323.
43. Jabbour E, Rondon G, Anderlini P et al. Treatment of donor graft failure with nonmyeloablative conditioning of fludarabine, antithymocyte globulin and a se-

- cond allogeneic hematopoietic transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40:431—435.
44. Remberger M, Watz E, Ringdén O et al. Major ABO blood group mismatch increases the risk for graft failure after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13(6):675—682.
 45. Uria-Oficialdegui ML, Alonso L, Benitez-Carabante MI et al. Use of eltrombopag for the treatment of poor graft function after hematopoietic stem cell transplantation in children. *Pediatr Transplant* 2021; 25(4):e14010.
 46. Giammarco S, Sica S, Chiusolo P et al. Eltrombopag for the treatment of poor graft function following allogeneic stem cell transplant: a retrospective multicenter study. *Int J Hematol* 2021; 114(2):228—234.
 47. Mahat U, Rotz SJ, Hanna R. Use of thrombopoietin receptor agonists in prolonged thrombocytopenia after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26(3):e65—73.
 48. Larocca A, Piaggio G, Podesta M et al. Boost of CD34+-selected peripheral blood cells without further conditioning in patients with poor graft function following allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2006; 91:935—940.
 49. Chandra S, Bleesing JJ, Jordan MB et al. Post-transplant CD34+-selected stem cell “boost” for mixed chimerism after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation in children and young adults with primary immune deficiencies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24(7):1527—1529.
 50. Ghobadi A, Fiala MA, Ramsingh G et al. Fresh or cryopreserved CD34+-selected mobilized peripheral blood stem and progenitor cells for the treatment of poor graft function after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23(7):1072—1077.
 51. Askaa B, Fischer-Nielsen A, Vindeløv L et al. Treatment of poor graft function after allogeneic hematopoietic cell transplantation with a booster of CD34+-selected cells infused without conditioning. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49(5):720—721.
 52. Cuadrado MM, Szydlo RM, Watts M et al. Predictors of recovery following allogeneic CD34+-selected cell infusion without conditioning to correct poor graft function. *Haematologica* 2020; 105(11):2639—2646.
 53. Haen SP, Schumm M, Faul C et al. Poor graft function can be durably and safely improved by CD34+-selected stem cell boosts after allogeneic unrelated matched or mismatched hematopoietic cell transplantation. *J Cancer Res Clin Oncol* 2015; 141(12):2241—2251.
 54. Larocca A, Piaggio G, Podesta M et al. Boost of CD34+-selected peripheral blood cells without further conditioning in patients with poor graft function following allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2006; 91:935—940.

Глава 28.

Мониторинг молекулярного химеризма у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

История исследования химеризма

Сосуществование клеток не одного генетического происхождения в одном индивидууме называется биологической химерой. Химеризм оценивается по долям дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), выделенной из клеток крови и/или костного мозга, принадлежащей донору и реципиенту после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Первым исследователем, описавшим феномен химеризма, был Owen [1]. В 1945 г. он впервые показал смешанный химеризм у дизиготных телят-близнецов. Как оказалось, у телят в кровотоке присутствовали не только аутоэритроциты, но и эритроциты близнеца, которые попали в организм еще во время внутриутробной жизни.

В последующем Medawar et al. продемонстрировали иммунологическую толерантность у дизиготных телят-близнецов [2]. В своем исследовании они выполняли трансплантацию кожи у крупного рогатого скота и фиксировали приживление трансплантатов без проведения иммуносупрессивной терапии. Впервые в трансплантологии термин «химера» применили Ford et al. В 1956 г. исследователи опубликовали работу, в которой описали введение аллогенных гемопоэтических клеток мышам после облучения [3].

В 1959 г. Thomas et al. впервые выполнили успешную трансплантацию у двух пациентов с острым лимфобластным лейкозом. Пациентам провели тотальное облучение тела с последующей инфузией костного мозга. Восстановление показателей было констатировано через 2 недели. Однако через несколько месяцев пациенты погибли от рецидива заболевания [4]. В настоящее время мониторинг химеризма является обязательным исследованием у пациентов после алло-ТГСК. Основой определения химеризма является анализ генетических различий между клетками донора и реципиента при помощи различных методов исследования [5].

Обзор методов исследования химеризма

При молекулярно-генетическом анализе химеризма обязательным первым шагом перед выполнением алло-ТГСК является выделение ДНК из клеток периферической крови или костного мозга реципиента и донора для определения генетических профилей [6].

Одним из первых методов рутинного мониторинга химеризма было исследование антигенов эритроцитов при помощи реакции гемагглютинации. Метод считается простым, воспроизводимым, однако стоит отметить, что в ранние сроки после алло-ТГСК не стоит полагаться на такой метод диагностики, учитывая длительную персистенцию эритроцитов, принадлежащих реципиенту, а также нередкое совпадение пары «донор—реципиент» по группе крови. В настоящее время в рутинной клинической практике для мониторинга химеризма он не применяется, так как не позволяет исследовать химеризм в «клинически значимых» клеточных популяциях [7].

Еще один метод, который применяли для мониторинга химеризма — это цитофлуоретрический анализ. Исследование химеризма проводили при помощи моноклональных антител, направленных на антигены эритроцитов АВ0 и С, с, D, Е, е. Недостатком метода является то, что исследование можно выполнять только в ситуациях, когда реципиенту не проводили гемотрансфузионную терапию, и этот метод также не применим для оценки химеризма в других клеточных популяциях [8, 9].

В настоящее время в клинической практике в качестве методов мониторинга химеризма наиболее востребованы флуоресцентная гибридизация *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization — FISH) и полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Мониторинг химеризма методом FISH проводится при помощи специфических зондов для половых хромосом с последующей флуоресцентной микроскопией. Чувствительность обнаружения минорно-

го генотипа составляет 0,4—5% [10, 11]. Главным недостатком метода является то, что невозможно выполнить исследование в случае, если пара «донор—реципиент» одного пола [12, 13], ввиду этого в 50% случаев данный метод диагностики химеризма не применим [14].

При мониторинге химеризма при помощи ПЦР изучаются полиморфные области генома, которые позволяют различать аллели донора и реципиента. Такой метод исследования основан на амплификации tandemных повторов с переменным числом (variable number tandem repeat — VNTR), коротких tandemных повторов (short tandem repeat — STR), однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms — SNP), полиморфизмов вставок/делеций (insertion/deletion — in/del). Его важным преимуществом является возможность применения у всех пар «донор—реципиент» за исключением однойцовых близнецов [15].

Впоследствии золотым стандартом определения химеризма стал анализ STR благодаря его высокой информативности. STR — это многократно и последовательно повторяющиеся фрагменты ДНК длиной от 1 до 6 оснований.

STR-локусы занимают до 3% геномной ДНК человека и в основном находятся в ее некодирующих регионах. Благодаря своей высокой полиморфности вследствие эволюционно нейтральных ошибок в воспроизведении кратного количества повторов при репликации, приведших к множеству аллельных вариантов, STR широко используют в биологических и медицинских исследованиях. В настоящее время хорошо изучены мультиаллельные спектры — варианты аллелей (приблизительно от 3 до 50 единиц одного повтора) более чем 5 тысяч локусов STR, и выбраны наиболее универсальные информативные панели STR, подходящие как для судебной медицины, так и для мониторинга химеризма [16—18]. Принцип метода мультиплексной ПЦР с амплификацией STR (STR-ПЦР): выбирают локусы с одинаковыми условиями амплификации и разной длиной ДНК-мишеней. Праймеры для этих локусов помечены флуоресцентными красителями, амплифицированный продукт фракционируется при помощи капиллярного электрофореза. Детектор флуоресценции регистрирует интенсивность сигнала от каждого ампликона, а добавление в пробы размерного стандарта позволяет затем с помощью программного обеспечения получить STR-профиль, состоящий из ряда ампликонов вычисленной длины. Относительный количественный анализ доли маркеров «реципиент/донор» в образце отражает долю ядерных клеток «реципиент/донор» в исследуемом материале пациента после алло-ТГСК. Уникальные маркеры для определения химеризма выявляются при сравнении профилей STR реципиента и донора. При полном совпаде-

нии STR-профилей у близнецов дается заключение о сингенности донора и реципиента и невозможности проведения мониторинга посттрансплантационного химеризма методом STR-профилирования. Во всех остальных случаях производится расчет посттрансплантационного химеризма как среднего от доли флуоресцентного сигнала уникальных STR-маркеров реципиента от общего флуоресцентного сигнала по каждому информативному локусу [19]. Для проведения первичного исследования необходимо небольшое количество ДНК ~1–5 нг, однако для детекции минорной ДНК в образцах, анализируемых на химеризм, количество ДНК должно быть увеличено [20]. Чувствительность этого метода составляет 1–5%, достаточно невысокая, поскольку в его основе лежит конкурентная реакция с одними и теми же праймерами к ДНК-мишеням, отличающимся длиной. Метод информативный, воспроизводимый при кросс-лабораторных исследованиях, не требующий построения калибровочных кривых или постановки контролей при каждом последующем мониторинге — именно поэтому он наиболее распространен в клинической практике [5].

Существуют и другие методики мониторинга химеризма при помощи метода количественной ПЦР. Alizadeh et al. предложили метод на основе ПЦР в реальном времени (qПЦР) для выявления SNP или коротких in/del [11]. Предложенная Alizadeh панель включает в себя от 20 ДНК-мишеней, однако в случае родственной трансплантации этой панели может не хватить для выявления уникальных маркеров химеризма реципиента и донора. В этом случае панель может быть расширена за счет всех имеющихся в арсенале лаборатории тест-систем для выявления аллельных полиморфизмов методом qПЦР. Такой метод мониторинга химеризма является высокочувствительным именно за счет использования аллельспецифичных праймеров. Чувствительность для qПЦР составляет 0,1% [21, 22].

С развитием новых технологий был предложен метод анализа SNP с еще более высокой чувствительностью от 0,01% минорной ДНК. Это цифровая капельная ПЦР (digital ПЦР или dПЦР) — метод абсолютного количественного определения ДНК-мишеней. При dПЦР реакционная смесь после добавления ДНК разбивается на множество микрокапель, попадающих в ячейки специального чипа, в каждой из которых идет ПЦР со специфичными праймерами. Ячейки, содержащие амплифицированные последовательности-мишени, обнаруживаются с помощью флуоресценции. Доля ПЦР-позитивных ячеек достаточна для определения концентрации целевой последовательности без необходимости калибровки [23]. Также возможно проведение dПЦР непосредственно в эмульсии капель, что значительно упрощает анализ [24]. Стоит отметить, что этот метод имеет ограничения в применении в

клинической практике, так как для проведения исследования необходимо минимальное количество ДНК ~50—75 нг, что часто бывает невозможным, учитывая, что у большинства пациентов после алло-ТГСК возникает цитопения [25]. Метод подходит для мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ), однако остается вопрос: нужна ли такая высокая чувствительность при исследовании химеризма. При заборе крови или костного мозга в образце обязательно окажется небольшая примесь (до 0,1%) клеток самого пациента, а все, что выше, можно определить и рутинными методами qПЦР и STR-ПЦР. Кроме того, чувствительность рутинных методов мониторинга химеризма можно значительно увеличить, если исследовать химеризм в тех селектированных клеточных популяциях, к которым относятся опухолевые клетки пациента. В табл. 1 отражены преимущества и недостатки основных современных молекулярных методов исследования химеризма.

Таблица 1. Основные методы исследования химеризма у больных после алло-ТГСК [6—14, 22—25]

Название метода	Преимущества	Недостатки
Исследование антигенов эритроцитов (реакция гемагглютинации)	Воспроизводимость	Исследование только одной клеточной популяции
Цитофлуометрический анализ	Воспроизводимость	Метод не применим, если проводилась гемотрансфузионная терапия. Исследование химеризма в одной клеточной популяции
Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH)	Информативность	Невозможно оценивать химеризм у пациентов и доноров, совпадающих по полу
STR-ПЦР	Информативность, воспроизводимость	Невысокая чувствительность — 1—5%
qПЦР	Высокая чувствительность метода — 0,1%	Ограничения при трансплантации от родственного донора
dПЦР	Очень высокая чувствительность метода — 0,01%	Потребность в высокой клеточности образца для выполнения исследования

Основные понятия, связанные с оценкой химеризма после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

После успешной алло-ТГСК устанавливается полный донорский химеризм в костном мозге и периферической крови.

Полный донорский химеризм — это обнаружение более 95—99,9% клеток в костном мозге/периферической крови, имеющих донорский генотип. Смешанный химеризм — это выявление 5—95% клеток в костном мозге/периферической крови, имеющих хозяйское происхождение [26]. Существует понятие «расщепленный химеризм», когда среди общей популяции клеток костного мозга и периферической крови наблюдается полный донорский химеризм, а в различных клеточных популяциях — смешанный химеризм [27, 28]. Также есть отдельные работы, в которых смешанный химеризм отдельно классифицируют на транзиторный, прогрессирующий и стабильный смешанный химеризм. При транзиторном смешанном химеризме в течение года после алло-ТГСК определяется смешанная популяция клеток донора и реципиента с дальнейшей констатацией полного химеризма. В ситуации, когда популяция клеток, принадлежащих реципиенту, увеличивалась более, чем на 15% в течение 3 месяцев, смешанный химеризм переходит в разряд прогрессирующего. При стабильном смешанном химеризме менее 5% клеток с хозяйским генотипом определяются в течение продолжительного времени [29, 30]. В табл. 2 отражены возможные статусы пациента на основании исследования химеризма.

Таблица 2. Оценка химеризма у больных после алло-ТГСК [26, 29, 30]

Состояние	Количество клеток с донорской ДНК	Количество клеток с хозяйской ДНК	Оценка
Полный донорский химеризм	> 95—99,9%	< 5—0,1%	В момент исследования
Смешанный донорский химеризм	5—95%	95—5%	В момент исследования
Стабильный смешанный химеризм	5—95%	95—5%	В течение 3 месяцев
Транзиторный смешанный химеризм	5—95%	95—5%	Увеличение количества клеток с хозяйским ДНК на 15% в течение 3 месяцев

Временной регламент мониторинга химеризма

При стабильной клинической картине большинство трансплантационных центров проводит мониторинг химеризма в сочетании с другими методами диагностики, начиная с 28-го дня после алло-ТГСК. Материалом для исследования могут служить как аспират костного мозга, так и цельная кровь, а также выделенные отдельные популяции клеток

крови и/или костного мозга. Продолжительность мониторинга химеризма после алло-ТГСК значительно варьирует в каждом трансплантационном центре. Рекомендуется наблюдение в течение 5 лет после алло-ТГСК, однако каждый трансплантационный центр самостоятельно утверждает рекомендованные сроки наблюдения [31]. В табл. 3 продемонстрированы варианты мониторинга химеризма у пациентов после алло-ТГСК в зависимости от клинической ситуации и возможностей селекции отдельных популяций [32].

Таблица 3. Алгоритм наблюдения за химеризмом после алло-ТГСК

Цель	Пациенты	Клеточные популяции	Метод	Временные промежутки
Оценка приживления	Все	Т-, НК-клетки периферической крови	STR-ПЦР	С 15-го дня алло-ТГСК 1 раз в 14 дней до констатации полного химеризма
		Пунктат костного мозга	STR-ПЦР	30-й день после алло-ТГСК
РТПХ	Все	Т-клетки	STR-ПЦР	1 раз в 14 дней до констатации полного химеризма
Наблюдение после констатации полного химеризма	Пациенты с злокачественными заболеваниями системы крови	Периферическая кровь или костный мозг	STR-ПЦР	90-й, 180-й, 365-й дни после алло-ТГСК
Наблюдение после констатации полного химеризма	Пациенты с злокачественными заболеваниями системы крови с наличием маркера МОБ до алло-ТГСК	Периферическая кровь	STR-ПЦР	Ежемесячно в течение 1 года после алло-ТГСК, 1 раз в 3 месяца в течение второго года
		Пунктат костного мозга	STR-ПЦР	1 раз в 3 месяца в течение года после алло-ТГСК
	Пациенты с злокачественными заболеваниями системы крови без маркера МОБ*	Периферическая кровь	qПЦР	Ежемесячно в течение 1 года после алло-ТГСК, 1 раз в 3 месяца в течение второго года
		Пунктат костного мозга	qПЦР	1 раз в 3 месяца в течение года после алло-ТГСК

*Высокая чувствительность метода оценки химеризма позволяет проводить мониторинг МОБ, используя этот метод, однако в любом образце крови или костного мозга всегда будет присутствовать некоторое количество клеток самого пациента (например, клетки эпителия), что затрудняет интерпретацию результатов исследования у пациентов без других маркеров МОБ.

РТПХ — реакция «трансплантат против хозяина».

Выбор материала для исследования химеризма у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Стоит отметить, что большинство трансплантационных центров предпочитают использовать в качестве материала для исследования периферическую кровь, учитывая менее инвазивную методику забора материала по сравнению с пункцией костного мозга [20]. Однако в редких случаях химеризм в крови и костном мозге у некоторых пациентов может различаться. Так, в работе Stumph et al. проводили сравнение химеризма в костном мозге и периферической крови у пациентов с диагнозом острого лейкоза и другими заболеваниями системы крови после алло-ТГСК [33]. Интересно, что 8 пациентов из 49 имели различия химеризма в костном мозге и периферической крови. Так, в периферической крови не обнаруживались клетки, принадлежащие реципиенту, а в костном мозге 1—18% клеток имели хозяйский генотип. В 2012 г. Rauwerdink et al. опубликовали ретроспективное исследование, в котором сравнивали химеризм в костном мозге и периферической крови; в работу включены 42 пациента. Исследователи не обнаружили различий в показателях химеризма между двумя образцами в сроки 30, 60 и 90 дней после алло-ТГСК [34]. Bach et al. в своей работе исследовали химеризм при помощи метода ПЦР в реальном времени. Различия в показателях химеризма костного мозга и периферической крови составили в среднем 1,9% [35].

Взаимосвязь химеризма и основных событий после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Детекция смешанного химеризма после алло-ТГСК при злокачественных заболеваниях системы крови ассоциирована с худшей безрецидивной и общей выживаемостью пациентов [36—38]. Существуют исследования, в которых продемонстрировано, что смешанный химеризм в ранние сроки после алло-ТГСК, а именно в первые 3 месяца после трансплантации, не связан с высоким риском развития рецидива заболевания [39]. В 2014 г. опубликовано крупное ретроспективное исследование, включавшее в себя 688 пациентов. В работе было показано, что донорский химеризм, составляющий менее 90% клеток, связан с увеличением риска рецидива заболевания [40]. В исследовании Bacher et al. было продемонстрировано, что у больных, у которых

достигнут полный донорский химеризм, вероятность трехлетней безрецидивной выживаемости составила 60%, в отличие от группы пациентов со смешанным химеризмом, у которых 3-летняя безрецидивная выживаемость составила около 30% [41].

В последние годы все больше трансплантационных центров изучают химеризм не только в аспирате костного мозга/периферической крови, но и в отдельных популяциях клеток (так называемый линейный химеризм), что позволяет более качественно оценить клиническую картину и спрогнозировать возможные осложнения на ранних этапах. Для мониторинга химеризма в клетках миелоидной направленности изучают CD15+, CD33+ клетки, в Т-лимфоцитах — CD3+, В-лимфоцитах — CD19+ с последующим выполнением ПЦР. Реже химеризм оценивают в NK- (CD16/CD56) или эритроидных клетках CD71+ [31].

В работе Mountjoy et al. показано, что смешанный химеризм на 30-й и 60-й день после алло-ТГСК в клетках как в лимфоидной (CD3+), так и в миелоидной (CD33+) направленности не ассоциирован с худшей безрецидивной и общей выживаемостью [42].

В исследовании Deeg et al. был проведен анализ химеризма у пациентов с миелофиброзом после алло-ТГСК. В исследование включен 131 пациент. По результатам проведенной работы было показано, что смешанный химеризм среди CD33+ клеток ассоциирован с рецидивом заболевания [43].

Так, по данным Breuer et al. выявление в ранние сроки среди NK-клеток 90% и более клеток с химеризмом реципиента служит предиктором несостоятельности трансплантата [44]. В работах Baron et al., M. Bornhäuser et al. также продемонстрировано, что снижение донорского генотипа в NK-клетках ниже 50—75% ассоциировано с более высоким риском несостоятельности трансплантата [45, 46].

Rosenow et al. исследовали химеризм у пациентов с острым лейкозом и миелодиспластическим синдромом. Безрецидивная выживаемость в течение 3 лет у пациентов с полным донорским химеризмом среди CD34+ клеток составляет 74% против 40% у больных со смешанным химеризмом [47].

По данным Jiang et al., Yang et al., у пациентов с В-острым лимфобластным лейкозом снижение донорского химеризма в В-лимфоцитах является предиктором рецидива заболевания [48, 49]. В свою очередь обнаружение смешанного химеризма в популяции клеток, относящихся к миелоидной линии, обычно является предиктором отторжения трансплантата и/или рецидива заболевания [50, 51].

Выявление смешанного химеризма среди Т-клеток может также быть предиктором рецидива заболевания. По данным литературы, снижение доли Т-клеток с донорским генотипом до 88,5% ассоцииро-

вано с развитием рецидива заболевания ($p = 0,04$) [52]. В другой работе было показано, что донорский химеризм среди Т-клеток на уровне 85% и менее ассоциирован с развитием рецидива у больных после алло-ТГСК ($p = 0,02$) [53].

Если рецидив заболевания происходит на фоне смешанного химеризма в костном мозге и среди различных клеточных популяций, то острая РТПХ (оРТПХ) возникает, как правило, на фоне полного донорского химеризма [54, 55].

По данным литературы, именно полный донорский химеризм среди Т-лимфоцитов после алло-ТГСК является прогностическим фактором развития оРТПХ. В работе Baron et al. было показано, что увеличение доли донорского химеризма более 90% на 28-е сутки после алло-ТГСК среди Т-лимфоцитов связано с развитием оРТПХ ($p = 0,02$) [56]. Похожие результаты были получены Antin et al.: если к 30-му дню после алло-ТГСК среди Т-клеток более 90% принадлежали донорскому генотипу, в 68% случаев развивалась оРТПХ в сравнении с группой пациентов, имевших менее 90% Т-клеток, принадлежащих донору ($p = 0,007$) [57].

В ретроспективном исследовании, включавшем в себя 150 пациентов после алло-ТГСК, было отмечено, что у 25% больных развивалась оРТПХ. При детальном анализе у всех пациентов с оРТПХ 2-й степени и выше был выявлен полный донорский химеризм среди популяций Т-клеток на 120-й день после алло-ТГСК [54].

В табл. 4 отражена связь смешанного химеризма в селектированных популяциях с развитием осложнений после алло-ТГСК.

Таблица 4. Смешанный химеризм в селектированных популяциях и взаимосвязь с неблагоприятным событием после алло-ТГСК [43—49, 52, 53]

Популяция	Связь с событием
НК-клетки	Несостоятельность трансплантата
CD34+ клетки, CD33+ клетки, В-лимфоциты, Т-лимфоциты	Рецидив заболевания

При помощи мониторинга химеризма в той или иной популяции можно также отслеживать восстановление определенных клеточных популяций. Так, в работе И.В. Звягина и соавт. было продемонстрировано восстановление Т-клеточного иммунитета у детей после трансплантации с деплецией TCR $\alpha\beta$ /CD19. Исследователи показали, что на 60-й день алло-ТГСК $\alpha\beta$ Т-клетки имеют генотип, принадлежащий реципиенту [58].

Стоит учесть, что выделение отдельных клеточных популяций является трудоемким процессом, требующим дополнительного времени для исследования, а полученные результаты стоит интерпретировать, учитывая динамику реконституции среди различных клеточных субпопуляций [59, 60].

Заключение

В настоящее время прогностическое значение химеризма в различных субпопуляциях клеток до конца не изучен, но, по-видимому, мониторинг химеризма отдельных клеточных популяций является более информативным по сравнению с химеризмом в общей популяции клеток у пациентов со злокачественными заболеваниями крови. Исследование химеризма в отдельных клеточных популяциях может служить дополнением к исследованию химеризма в целом, а также помочь предотвращать или прогнозировать различные иммунологические осложнения после алло-ТГСК для более ранней отмены иммуносупрессивной терапии, своевременной трансфузии лимфоцитов донора и повторной алло-ТГСК.

Литература

1. Owen RD. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* 1945; 102(2651):400—401. DOI: 10.1126/science.102.2651.400.
2. Anderson D, Billingham RE, Lampkin GH, Medawar PB. The use of skin grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle. *Heredity* (Edinb) 1951; 5(3):379—397. DOI: 10.1038/hdy.1951.38.
3. Ford CE, Hamerton JL, Barnes DWH, Loutit JF. Cytological identification of radiation-chimæras. *Nature* 1956; 177(4506): 452—454. DOI: 10.1038/177452a0.
4. Thomas ED, Lochte HL, Cannon JH, Sahler OD. Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest* 1959; 38:1709—1716. DOI: 10.1172/JCI103949.
5. Khan F, Agarwal A, Agrawal S. Significance of chimerism in hematopoietic stem cell transplantation: New variations on an old theme. *Bone Marrow Transplant* 2004; 34(1):1—12. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704525.
6. Clark JR, Scott SD, Jack AL, et al. Monitoring of chimerism following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT): technical recommendations for the use of short tandem repeat (STR) based techniques, on behalf of the United Kingdom national external quality assessment service for leucocyte immunophenotyping chimerism working group. *Br J Haematol* 2015; 168(1):26—37. DOI: 10.1111/bjh.13073.
7. van Dijk BA, Drenthe-Schonk AM, Bloo A et al. Erythrocyte repopulation after allogeneic bone marrow transplantation: analysis using erythrocyte antigens. *Transplantation* 1987; 44(5):650—654. DOI: 10.1097/00007890-198711000-00011.

8. Hendriks EC, De Man AJ, Van Berkel YC et al.. Flow cytometric method for the routine follow-up of red cell populations after bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1997; 97(1):141—145. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1997.d01-2138.x.
9. Andreani M, Testi M, Battarra M, Lucarelli G. Split chimerism between nucleated and red blood cells after bone marrow transplantation for haemoglobinopathies. *Chimerism* 2011; 2(1):21—22. DOI: 10.4161/chim.15057.
10. Buño I, Nava P, Simón A et al. A comparison of fluorescent in situ hybridization and multiplex short tandem repeat polymerase chain reaction for quantifying chimerism after stem cell transplantation. *Haematologica* 2005; 90(10):1373—1379.
11. Alizadeh M, Bernard M, Danic B et al. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood* 2002; 99(12):4618—4625. DOI: 10.1182/blood.v99.12.4618.
12. Jółkowska J, Pieczonka A, Strabel T et al. Hematopoietic chimerism after allogeneic stem cell transplantation: a comparison of quantitative analysis by automated DNA sizing and fluorescent in situ hybridization. *BMC Blood Disord* 2005; 5(1):1. DOI: 10.1186/1471-2326-5-1.
13. Dewald G, Stallard R, Saadi AA et al. A multicenter investigation with interphase fluorescence in situ hybridization using X- and Y-chromosome probes. *Am J Med Genet* 1998; 76(4):318—326.
14. Thiede C, Bornhäuser M, Ehninger G. Strategies and clinical implications of chimerism diagnostics after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Acta Haematol* 2004; 112(1—2):16—23. PMID: 15179000 DOI: 10.1159/000077555.
15. Kristt D, Stein J, Yaniv I, Klein T. Assessing quantitative chimerism longitudinally: technical considerations, clinical applications and routine feasibility. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39(5):255—268. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705576.
16. Andrikovics H, Örfi Z, Meggyesi N et al. Current trends in applications of circulatory microchimerism detection in transplantation. *Int J Mol Sci* 2019; 20(18):4450. DOI: 10.3390/ijms20184450.
17. Bach C, Tomova E, Goldmann K et al. Monitoring of hematopoietic chimerism by real-time quantitative PCR of micro insertions/deletions in samples with low DNA quantities. *Transfus Med Hemother* 2015; 42(1):38—45. DOI: 10.1159/000370255.
18. Fan H, Chu JY. A brief review of short tandem repeat mutation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2007; 5(1):7—14. DOI: 10.1016/S1672-0229(07)60009-6.
19. Nollet F, Billiet J, Selleslag D, Criel A. Standardisation of multiplex fluorescent short tandem repeat analysis for chimerism testing. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28(5):511—518. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703162.
20. Blouin AG, Ye F, Williams J, Askar M. A practical guide to chimerism analysis: review of the literature and testing practices worldwide. *Hum Immunol* 2021; 82(11):838—849. DOI: 10.1016/j.humimm.2021.07.013.
21. Stahl T, Böhme MU, Kröger N, Fehse B. Digital PCR to assess hematopoietic chimerism after allogeneic stem cell transplantation. *Exp Hematol* 2015; 43(6):462—468.e1. DOI: 10.1016/j.exph.2015.02.006.

22. Kletzel M, Huang W, Olszewski M, Khan S. Validation of chimerism in pediatric recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) a comparison between two methods: real-time PCR (qPCR) vs. variable number tandem repeats PCR (VNTR PCR). *Chimerism* 2013; 4(1):1–8. DOI: 10.4161/chim.23158.
23. Quan PL, Sauzade M, Brouzes E. DPCR: a technology review. *Sensors (Basel)* 2018; 18(4):1271. DOI: 10.3390/s18041271.
24. Basu AS. Digital assays part I: partitioning statistics and digital PCR. *SLAS Technology*. 2017; 22(4):369–386. DOI: 10.1177/2472630317705680.
25. Das TP, Kipp DA, Kliman DS et al. Important factors in implementation of lineage-specific chimerism analysis for routine use. *Bone Marrow Transplant* 2021; 56(4):946–948. DOI: 10.1038/s41409-020-01089-6.
26. Bader P. Documentation of engraftment and chimerism after HSCT. Chapter 20. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N, editors. *The EBMT handbook: hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies*. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019. P. 143–147. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5_20.
27. Sellmann L, Rabe K, Bünting I et al. Diagnostic value of highly-sensitive chimerism analysis after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53(11):1457–1465. DOI: 10.1038/s41409-018-0176-7.
28. Miura Y, Tanaka J, Toubai T, et al. Analysis of donor-type chimerism in lineage-specific cell populations after allogeneic myeloablative and nonmyeloablative stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37(9):837–843. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705352.
29. Gineikiene E, Stoskus M, Griskevicius L. Recent advances in quantitative chimerism analysis. *Expert Rev Mol Diagn* 2009; 9(8):817–832. DOI: 10.1586/erm.09.66.
30. Lawler M, McCann SR, Marsh JCW et al. Serial chimerism analyses indicate that mixed haemopoietic chimerism influences the probability of graft rejection and disease recurrence following allogeneic stem cell transplantation (SCT) for severe aplastic anaemia (SAA): indication for routine assessment of chimerism post SCT for SAA. *Br J Haematol* 2009; 144(6):933–945. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07533.x.
31. Zimmerman C, Shenoy S. Chimerism in the realm of hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant disorders—a perspective. *Front Immunol* 2020; 11:1791. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01791.
32. Navarro-Bailón A, Carbonell D, Escudero A et al. Short tandem repeats (STRs) as biomarkers for the quantitative follow-up of chimerism after stem cell transplantation: methodological considerations and clinical application. *Genes (Basel)* 2020; 11(9):993. DOI: 10.3390/genes11090993.
33. Stumph J, Vnencak-Jones CL, Koyama T, Frangoul H. Comparison of peripheral blood and bone marrow samples for detection of post transplant mixed chimerism. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41(6):589–590. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705938.
34. Rauwerdink CA, Tsongalis GJ, Tosteson TD et al. The practical application of chimerism analyses in allogeneic stem cell transplant recipients: blood chimerism is equivalent to marrow chimerism. *Exp Mol Pathol* 2012; 93(3):339–344. DOI: 10.1016/j.yexmp.2012.07.003.

35. Bach C, Steffen M, Roesler W et al. Systematic comparison of donor chimerism in peripheral blood and bone marrow after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Cancer J* 2017; 7(6):e566. DOI: 10.1038/bcj.2017.42.
36. Reshef R, Hexner EO, Loren AW et al. Early donor chimerism levels predict relapse and survival after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(11):1758—1766. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.07.003.
37. Jain T, Kunze KL, Mountjoy L et al. Early post-transplantation factors predict survival outcomes in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis. *Blood Cancer J* 2020; 10(3):36. DOI: 10.1038/s41408-020-0302-9.
38. Блау О. В. Химеризм после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая онкогематология*. 2013; 6(1):34—39.
39. Lamba R, Abella E, Kukuruga D et al. Mixed hematopoietic chimerism at day 90 following allogeneic myeloablative stem cell transplantation is a predictor of relapse and survival. *Leukemia* 2004; 18(10):1681—1686. DOI: 10.1038/sj.leu.2403468.
40. Koreth J, Kim HT, Nikiforow S et al. Donor chimerism early after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation predicts relapse and survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(10):1516—1521. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.05.025.
41. Bacher U, Haferlach T, Fehse B et al. Minimal residual disease diagnostics and chimerism in the post-transplant period in acute myeloid leukemia. *Scientific World Journal*. 2011; 11:310—319. DOI: 10.1100/tsw.2011.16.
42. Mountjoy L, Palmer J, Kunze KL et al. Does early chimerism testing predict outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation? *Leuk Lymphoma* 2021; 62(1):252—254. DOI: 10.1080/10428194.2020.1827249.
43. Deeg HJ, Salit RB, Monahan T et al. Early mixed lymphoid donor/host chimerism is associated with improved transplant outcome in patients with primary or secondary myelofibrosis: mixed chimerism, GVHD, and relapse. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26(12):2197—2203. DOI: 10.1016/j.bbmt.2020.07.013.
44. Breuer S, Preuner S, Fritsch G et al. Early recipient chimerism testing in the T- and NK-cell lineages for risk assessment of graft rejection in pediatric patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia* 2012; 26(3):509—519. DOI: 10.1038/leu.2011.244.
45. Baron F, Baker JE, Storb R et al. Kinetics of engraftment in patients with hematologic malignancies given allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *Blood* 2004; 104(8):2254—2262. DOI: 10.1182/blood-2004-04-1506.
46. Bornhäuser M, Thiede C, Platzbecker U et al. Dose-reduced conditioning and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors in 42 patients. *Clin Cancer Res* 2001; 7(8):2254—2262.
47. Rosenow F, Berkemeier A, Krug U et al. CD34 + lineage specific donor cell chimerism for the diagnosis and treatment of impending relapse of AML or myelodysplastic syndrome after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48(8):1070—1076. DOI: 10.1038/bmt.2013.2.

48. Jiang Y, Wan L, Qin Y et al. Donor chimerism of B cells and nature killer cells provides useful information to predict hematologic relapse following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *PLoS One* 2015; 10(7):e0133671. DOI: 10.1371/journal.pone.0133671.
49. Yang Y-N, Wang X, Qin Y et al. Is there a role for B lymphocyte chimerism in the monitoring of B-acute lymphoblastic leukemia patients receiving allogeneic stem cell transplantation? *Chronic Dis Transl Med* 2015; 1(1):48—54. DOI: 10.1016/j.cdtm.2015.02.004.
50. Hsieh MM, Fitzhugh CD, Tisdale JF. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease: the time is now. *Blood* 2011; 118(5):1197—1207. DOI: 10.1182/blood-2011-01-332510.
51. Bornhäuser M, Oelschlaegel U, Platzbecker U et al. Monitoring of donor chimerism in sorted CD34+ peripheral blood cells allows the sensitive detection of imminent relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2009; 94(11):1613—1617. DOI: 10.3324/haematol.2009.007765.
52. Broglie L, Helenowski I, Jennings LJ et al. Early mixed T-cell chimerism is predictive of pediatric AML or MDS relapse after hematopoietic stem cell transplant. *Pediatr Blood Cancer* 2017; 64(9):e26493. DOI: 10.1002/pbc.26493.
53. Lee HC, Saliba RM, Rondon G et al. Mixed T lymphocyte chimerism after allogeneic hematopoietic transplantation is predictive for relapse of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(11):1948—1954. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.07.005.
54. El-Cheikh J, Vazquez A, Crocchiolo R et al. Acute GVHD is a strong predictor of full donor CD3+ T cell chimerism after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2012; 87(12):1074—1078. DOI: 10.1002/ajh.23319.
55. Mattsson J, Uzunel M, Remberger M, Ringdén O. T cell mixed chimerism is significantly correlated to a decreased risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Transplantation* 2001; 71(3):433—439. DOI: 10.1097/00007890-200102150-00017.
56. Baron F, Little MT, Storb R. Kinetics of engraftment following allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity or nonmyeloablative conditioning. *Blood Rev* 2005; 19(3):153—164. DOI: 10.1016/j.blre.2004.06.003.
57. Antin JH, Childs R, Filipovich AH et al. Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: Recommendations from a workshop at the 2001 Tandem Meetings of the International Bone Marrow Transplant Registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2001; 7(9):473—485. DOI: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11669214.
58. Zvyagin IV, Mamedov IZ, Tatarinova OV et al. Tracking T-cell immune reconstitution after TCR $\alpha\beta$ /CD19-depleted hematopoietic cells transplantation in children. *Leukemia* 2017; 31(5):1145—1153. DOI: 10.1038/leu.2016.321.
59. Попова Н. Н., Савченко В. Г. Реконституция Т-клеточного звена иммунной системы у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтиче-

- ских стволовых клеток. Гематология и трансфузиология 2020; 65(1):24—38. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-24-38.
60. Михальцова Е. Д., Попова Н. Н., Дроков М. Ю. и др. Влияние режимов профилактики РТПХ на восстановление клеточного звена иммунной системы у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Медицинская иммунология 2021; 23(5):1125—1136.

Глава 29.

Приверженность к лечению у больных с заболеваниями системы крови и реципиентов аллогенных органов и тканей

Историческое развитие медицины сформировало четыре модели взаимоотношений врача и пациента в зависимости от роли, которую принимает пациент в этой системе отношений. Наиболее популярная классификация, предложенная ведущим американским биоэтиком Робертом Витчем, была разработана в 70-е годы XX века. Все модели Р. Витч разделил на две группы — патерналистские и непатерналистские, или модели сотрудничества. В патерналистских моделях пациент — это простой исполнитель врачебных назначений, в то время как в непатерналистских — он равный участник [1].

С середины XX века клиницисты стали обращать внимание на то, соблюдают ли пациенты врачебные назначения, так как неправильный прием препаратов негативно сказывался на результатах лечения. В 1976 г. американско-канадский врач Д. Сакетт ввел медицинский термин «compliance», что, по определению Оксфордского словаря, значит «податливость или подчинение правилам». Пациентов, которые соблюдали врачебные назначения, стали называть «комплаентными» [2].

При смене патерналистской модели взаимоотношений между врачом и пациентом на модель сотрудничества появился новый термин — «concordance» (англ. — согласие), отражающий большую вовлеченность пациента в процесс лечения. Однако наиболее популярным

термином, отражающим всю суть партнерского взаимоотношения между врачом и пациентом, стало понятие «adherence» (англ. — приверженность, следование правилам), означающее степень соблюдения врачебных рекомендаций [2].

И наконец, последний термин, который появился с целью характеристики продолжительности выполнения больным назначений врача, — термин «persistence», что в переводе с английского означает «упорство», «настойчивость» [2].

В 2012 г. американскими врачами был создан «The Cureatr Blog». Специалисты интернет-журнала помогают организациям здравоохранения, а также пациентам обеспечить правильный, эффективный и, самое главное, безопасный прием лекарств.

Термин «compliance», по данным обзора генерального директора журнала Ричарда Резника, обозначает лишь только акт приема лекарств в соответствии с предписаниями врача. Автор утверждает, что «compliance» довольно узкое понятие.

Постоянный прием надлежащей дозы препарата в нужное время и в течение рекомендуемого периода включает в себя — «adherence». Также этот термин отражает степень вовлеченности пациента, а не просто пассивное следование назначениям. Именно этот термин актуален в настоящее время в англоязычной литературе.

Понятие «persistence» зачастую используют как синоним «adherence». Но это неверно. «Persistence» — это продолжительность времени, в течение которого пациент принимает препараты, временной интервал от начала до прекращения терапии. Тогда как «adherence» степень, которую можно выразить в процентах.

В русскоязычной медицинской литературе отсутствует такое разнообразие в терминологии, используют только два понятия — «комплаентность» и «приверженность к терапии», они являются тождественными.

Различия в терминах отображены в табл. 1.

Таблица 1. Сравнение терминологии

Аі әеі үсұ ÷і ū ё оәді еі	Определение	Русскоязычный термин
Compliance	Податливость или пассивное следование рекомендациям	Нет термина-эквивалента
Concordance	Согласие, отражающее большую вовлеченность пациента в процесс лечения	Нет термина-эквивалента
Adherence	Приверженность или степень, которую можно выразить в процентах	Приверженность к терапии, комплаентность
Persistence	Настойчивость или продолжительность времени следования рекомендациям	Нет термина-эквивалента

По данным специального доклада Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [3], приверженность к длительной терапии хронических заболеваний в развитых странах в 2003 г. в среднем составляла 50%. В развивающихся странах показатели были еще ниже. Спустя два десятилетия после доклада вопросы приверженности не потеряли своей актуальности. Низкая приверженность к лечению заболеваний остается мировой проблемой.

Соблюдение режима лечения может оказать гораздо большее влияние на здоровье населения, чем любое улучшение конкретных методов лечения. Низкий уровень приверженности к длительной терапии значительно снижает эффективность лечения, что делает эту проблему критической для здоровья населения как с точки зрения качества жизни, так и с точки зрения экономики здравоохранения [3].

В рамках обсуждения проблем приверженности члены ВОЗ приняли определение, которым пользуются специалисты во всем мире. Приверженность к терапии (*adherence*) — это степень, в которой поведение пациента соответствует согласованным рекомендациям от врача. Авторы подчеркнули, что пациенты должны быть активными партнерами медицинских работников в их терапии, а доверительное общение между врачом и пациентом является обязательным условием для взаимодействия [3].

В 2017 г. российскими терапевтами разработан консенсус по количественной оценке приверженности к терапии в клинической практике в отношении больных, требующих длительного или постоянного лечения [4]. В своей работе авторы обозначили ряд определений, характеризующих приверженность.

Приверженность к лечению — комплексная модель поведения пациента в отношении своего здоровья, реализующаяся в степени соответствия такого поведения полученным от врача рекомендациям, касающимся приема препаратов, соблюдения диеты и других мер изменения образа жизни. Здесь приверженность к лечению — интегральный показатель, который характеризует способность пациента выполнять рекомендации врача в отношении модификации лекарственной терапии, медицинского сопровождения, модификации образа жизни.

Приверженность к лекарственной терапии — способность пациента выполнять рекомендации врача в отношении приема препаратов и применения медикаментов на протяжении неопределенно долгого времени.

Приверженность к медицинскому сопровождению — способность пациента выполнять рекомендации врача в отношении периодического медицинского наблюдения и самоконтроля состояния здоровья на протяжении неопределенно долгого времени.

Приверженность к модификации образа жизни — способность пациента выполнять рекомендации врача в отношении модификации режимов диеты и физических нагрузок и ограничения либо отказа от нежелательных привычек.

На протяжении нескольких десятилетий проводили многочисленные исследования о том, как правильно измерять и количественно оценивать приверженность к терапии. Объективные методы включают учет оставшихся единиц лекарственных средств, мониторинг концентрации препаратов в биологических жидкостях, учет базы данных аптек и так далее [5]. К субъективным методам относят стандартизированные анкеты, заполняемые пациентами [5]. На первый взгляд может показаться, что объективные методы лучше субъективных. Но при учете оставшихся единиц распространены неточности в подсчетах, также остается без внимания такая важная информация, как время приема и схема лечения. Учет базы данных аптек сложен. Получение препарата не гарантирует его использование, пациенты могут пользоваться более чем одной аптекой, поэтому информация может быть неполной. Биохимическое измерение также не лишено недостатков. Результаты могут вводить в заблуждение, так как зависят от множества индивидуальных факторов, включая диету, всасывание препарата, его экскрецию. В рамках научных исследований активно используют именно субъективные методы оценки приверженности. Большинство из известных опросников по оценке приверженности англоязычные, немногие из них переведены на русский язык и валидированы. Есть анкеты, которые созданы для пациентов с конкретным заболеванием, что также ограничивает их применение. Также при выборе анкеты обращают внимание на надежность, чувствительность и специфичность теста [6].

По данным литературного обзора американских специалистов [7], существует пять наиболее часто используемых и проверенных анкет для изучения приверженности:

- 8-элементный опросник D. Morisky (Morisky Medication Adherence Scale — MMAS-8) [8].
- Краткий опросник (Brief Medication Questionnaire — BMQ) [9].
- Шкала Hill-Bone [10].
- Шкала MARS (Medication Adherence Report Scale) [11].
- Шкала SEAMS (Self-Efficacy for Appropriate Medication Use Scale) [12].

К наиболее простым и доступным опросникам, предназначенным для оценки приверженности к лечению, относятся разработанные D. Morisky et al. MMAS-4 [13] и MMAS-8 [8]. Эти шкалы переведены на многие языки, в том числе и на русский, и валидированы для диагностики приверженности различных хронических заболеваний. В то

же время, по данным публикаций [14], созданный в 1986 г. опросник MMAS-4 характеризуется относительно невысокой чувствительностью (44%), специфичностью (47%) и надежностью (72,7%). А вот пришедший ему на смену опросник MMAS-8 обладает существенно лучшей чувствительностью (93%) при сопоставимой специфичности (53%) [15]. Анкеты, разработанные D. Morisky, простые, удобны в интерпретации, однако с помощью них невозможно оценить любые другие параметры приверженности, за исключением лекарственной. Важно для исследователей то, что MMAS защищена авторским правом, приобретение лицензии на ее использование очень дорого, были отмечены попытки авторов теста повлиять на публикации. Мировое научное сообщество рекомендует отдавать предпочтение другим опросникам [16].

Российские исследователи также предлагают ряд опросников для русскоязычных пользователей. Шкала приверженности НОДФ (Национального общества доказательной фармакотерапии) [17] и отечественный опросник приверженности терапии [18] удобны в использовании в реальной клинической практике, так как включают всего 4 вопроса. Однако в сравнении со шкалой D. Morisky демонстрируют отличные результаты [19].

В 2008 г. был разработан опросник количественной оценки приверженности к лечению КОП-25 [20] для оценки приверженности к лечению у больных артериальной гипертензией, впоследствии модернизированный для универсального применения. В 2020 г. группа российских исследователей рекомендовала его применение для мониторинга уровня приверженности реципиентов до и после трансплантации солидных органов [21]. Чувствительность теста составляет 93%, специфичность — 78%, надежность — 94% [20].

Сводные данные по опросникам, их показатели чувствительности и специфичности представлены в табл. 2.

В 1996 г. группа ученых из Бельгии и Нидерландов организовала симпозиум *Lowlands Symposium*, чтобы поделиться своими исследованиями в области приверженности пациентов к терапии. В 2006 г. оргкомитет решил переименовать симпозиум в *European Symposium on Patient Adherence Compliance and Persistence* и пригласить к участию другие европейские страны. Появился повышенный интерес к вопросам, связанным с приверженностью, по всей Европе. В 2009 г. было основано *European Society for Patient Adherence Compliance and Persistence (ESPACOMP)*. И в 2019 г. ESPACOMP переименовано в *International Society for Medication Adherence*. В настоящее время ESPACOMP представляет собой межпрофессиональное сообщество, которое занимается исследованиями в области приверженности к терапии.

Таблица 2. Характеристика шкал, используемых для оценки приверженности

Шкала	Количество вопросов	Язык	Нозологии	Надежность	Чувствительность	Специфичность	Измеряемые признаки
MMAS-8	8	Доступна на многих языках, в том числе на русском	ХНЗ	83%	93%	53%	Лекарственная приверженность и барьеры
BMQ	11	Доступна на многих языках, русской версии нет	ХНЗ	Не приводятся	80%	100%	Лекарственная приверженность и барьеры
Hill-Bone	14	Доступна на многих языках, русской версии нет	АГ	84%	Не приводятся	Не приводятся	Лекарственная приверженность и барьеры
MARS	5/10	Доступна на многих языках, русской версии нет	Психические заболевания	75%	Не приводятся	Не приводятся	Лекарственная приверженность и барьеры
SEAMS	13	Доступна на многих языках, русской версии нет	ХНЗ	89%	Не приводятся	Не приводятся	Барьеры
НОДФ	4	Русский	ССЗ	77%	Не приводятся	Не приводятся	Лекарственная приверженность и барьеры
Отечественный опросник	4	Русский	АГ	Не приводятся	Не приводятся	Не приводятся	Лекарственная приверженность и барьеры
КОП-25	25	Русский Английский	ХНЗ	94%	93%	78%	Приверженность к лекарственной терапии, медицинскому сопровождению, модификации образа жизни

АГ — артериальная гипертензия; ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания; ХНЗ — хронические неинфекционные заболевания.

Эффективность вмешательств в приверженность пациентов была продемонстрирована во многих медицинских направлениях, таких как исследования в области гипертонической болезни [22], СПИДа [23], онкологии [24], трансплантации сердца [25, 26], бронхиальной астмы [27, 28], сахарного диабета [29], ожирения [30], злоупотребления алкоголем [31], курением [32] и др.

Приверженность в гематологии в основном изучали на пациентах с хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) и острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ). Работ с другими нозологиями не так много. Это, по всей видимости, связано с потребностью в длительном непрерывном пероральном приеме препаратов у данной категории пациентов (ХМЛ и ОЛЛ) и преобладанием курсовой внутривенной терапии у остальных.

В 2021 г. опубликован обзор литературы Tan et al. [33] о мониторинге и улучшении приверженности к лечению у пациентов с ХМЛ. Поиск литературы был выполнен в 5 базах данных. Публикации, которые авторы включили в обзор, были опубликованы в период с 2002 по 2021 г. Во всех включенных исследованиях оценивали эффективность вмешательств для обеспечения оптимальной приверженности к лекарственной терапии ингибиторов тирозинкиназы (ИТК) у пациентов с ХМЛ. Вмешательства включали обучение и консультации пациентов с лечащими врачами, фармацевтами, медицинскими сестрами, некоторые исследователи использовали психотерапию, также применяли напоминания в мобильных приложениях или короткие текстовые сообщения. В целом продолжительность вмешательств варьировала от трех месяцев до пяти лет. Для измерения приверженности к лекарственной терапии ИТК в различных исследованиях использовали: анкетирование, систему мониторинга оставшихся единиц лекарственных средств и анализ данных аптек. Семь из девяти включенных исследований показали, что приверженность к ИТК в группе с вмешательством была значительно выше, чем в группе сравнения. Так, Tan et al. [34] сообщили о статистически более высокой частоте достижения большого молекулярного ответа на 6-м месяце терапии ИТК в группе с вмешательством по сравнению с контрольной группой (58,5% против 35,9%; $p = 0,01$) и значительно более высокой скорости достижения полного молекулярного ответа на 12-м месяце терапии ИТК (24,6% против 10,9%; $p = 0,042$). В то же время некоторые работы не показали значительного улучшения показателей приверженности после вмешательства, вероятно, это было связано с высоким базовым уровнем [35].

Челышева и др. [36] в публикации, подготовленной совместно гематологами и психологом, рассматривают причины нарушения приверженности терапии, связанные с характером самого лечения, а также

с психологическими особенностями у пациентов с ХМЛ. На приверженность к терапии, по мнению гематологов, может повлиять: сложность режима приема препарата, побочные эффекты, недостаток информации о заболевании, стоимость терапии. К психологическим причинам авторы отнесли: недисциплинированность пациента, тревожные и депрессивные расстройства, отсутствие доверительных отношений между врачом и пациентом, наличие когнитивных нарушений, наличие образования и профессии, которые несопоставимы с вероятной физической инвалидизацией, а также употребление алкоголя.

Ионова и др. [37] отметили связь между качеством жизни и результатами лечения пациентов с ХМЛ. Через 24 месяца после начала терапии у 83% больных зарегистрирован ответ на лечение, связанный с качеством жизни, в виде улучшения или стабилизации состояния. Иными словами, пациенты с высоким качеством жизни более привержены к терапии.

С середины XX века начал возрастать интерес к трансплантации солидных органов. К XXI веку трансплантации стали эффективными во многом благодаря применению иммуносупрессивных средств. Наиболее очевидным и тяжелым последствием несоблюдения режима лечения является отторжение аллогенного трансплантата. Однако не только иммуносупрессивная и сопроводительная терапия являются обязательными. Ранний посттрансплантационный период также немыслим без частого мониторинга функции трансплантата и оценки общего состояния здоровья пациента.

С течением времени частота врачебных посещений уменьшается, однако возрастают и требования к автономности пациента — его способности отслеживать и выполнять предписания врача. Приверженность к терапии является одним из тех ключевых моментов, который обеспечивает минимизацию возможных осложнений, в том числе отторжение трансплантата.

По данным публикаций, распространенность несоблюдения режима лечения у пациентов, перенесших трансплантацию, колеблется от 15% до 30%, в зависимости от пересаженного органа [38]. Наиболее изучена приверженность к терапии у реципиентов почечного трансплантата. Villeneuve et al. выполнили многоцентровое продольное исследование [38]. Авторы проанализировали данные, собранные у взрослых реципиентов почечного трансплантата, которые были включены в два проспективных исследования: EPIGREN, проведенное в период с 2007 по 2011 г. в 3 французских центрах трансплантации почек, и EPHEGREN, проведенное в период с 2012 по 2017 г. в тех же центрах [39]. В анализ были включены 345 реципиентов из группы EPIGREN и 367 из группы EPHEGREN. Пациенты наблюдались через 1, 3, 6, 12,

18, 24 и 36 месяцев после трансплантации. Приверженность оценивали с использованием шкалы MMAS-4. В исследование включали пациентов, которые заполняли отчетные формы не менее 2 раз. Большинство пациентов (89,9% и 97,5% соответственно) заполняли анкеты не менее 4 раз за период наблюдения.

Уровень неприверженных пациентов через месяц после трансплантации среди реципиентов из групп EPIGREN и EPHEGREN составлял 6,8% и 4,8% соответственно ($p < 0,001$). Несоблюдение режима лечения постепенно увеличивалось с течением времени и достигло 20,5% в группе EPIGREN и 13,1% в группе EPHEGREN через 2 года после трансплантации. У молодых пациентов, а также пациентов, которые сообщали о частых эпизодах депрессии и низком уровне качества жизни, исследователи отмечали более низкие значения приверженности ($p < 0,001$).

Большинство опубликованных исследований у пациентов после трансплантации оценивают приверженность лишь однократно. Такие исследования не позволяют рассмотреть последовательность событий во времени. Более того, при таком типе исследований пациенты, которые пропускают лишь одну дозу препарата, также считаются не соблюдающими режим лечения, в то время как их приверженность впоследствии может быть адекватной. Кроме того, единичный случай несоблюдения режима лечения не имеет ни тех же причин, ни такого же влияния на исход лечения, как повторные эпизоды, что оправдывает большую значимость длительных наблюдений за данной категорией пациентов.

Rodrigue et al. провели исследование по изучению приверженности у реципиентов печени [40]. В анализ были включены 236 взрослых реципиентов печеночного трансплантата из 2 трансплантационных центров США. С участниками исследования проводили телефонные интервью по поводу приверженности к иммуносупрессивной терапии через 6—24 месяца после трансплантации. В результате 35% реципиентов трансплантата периодически пропускали прием препаратов, 14% — принимали измененную дозу. Пропуск приема препаратов был ассоциирован с мужским полом ($p = 0,01$), более длительным периодом с момента трансплантации ($p = 0,01$), депрессивными расстройствами ($p = 0,004$) и слабой социальной поддержкой ($p = 0,03$). Изменение дозы принимаемых иммунодепрессантов было связано с депрессией ($p = 0,04$) и недостаточной социальной поддержкой ($p = 0,03$).

Показательная работа была проделана Bertram et al. [41]. Авторы проанализировали связь уровня приверженности лечению с исходами после трансплантации легких. Приверженность была оценена у 427 пациентов, перенесших трансплантацию легких в Ганноверской

клинике. На протяжении 3 лет приверженность оценивали при посещении клиники по поводу очередного осмотра, используя шкалу Likert. Медиана приверженности составила 86%. Пациенты с хорошим уровнем в течение первых трех лет показали лучшее приживление аллотрансплантата (74% против 60%, $p = 0,003$), лучшую выживаемость (79% против 64%, $p < 0,001$) и более низкую частоту хронической дисфункции трансплантата (33% против 45%, $p = 0,011$).

Исследований приверженности к терапии у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) не так много. Хотя для этой категории пациентов длительная иммуносупрессия еще более принципиальна и значима.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток предполагает интенсивный режим лечения, который включает в себя длительное пребывание в стационаре, частые амбулаторные визиты, обширную поддерживающую терапию. Пациентам также рекомендуют лекарственные средства, прием которых строго обязателен. Режим приема препаратов достаточно сложный не только из-за их количества, но и из-за различных сроков применения каждого препарата (то есть один раз в день, два раза в день и т. д.), кроме того, набор препаратов периодически изменяется. В текущей модели сотрудничества после выписки пациенты становятся сами ответственны за свой режим приема лекарственных средств. Следовать сложной схеме лечения имеет важное значение для предотвращения инфекционных, иммунных и других осложнений в посттрансплантационном периоде. Помимо индивидуальных характеристик, психического и социального статуса пациента на приверженность к терапии в рамках алло-ТГСК будут влиять тяжесть основного заболевания, сопутствующие заболевания, вид трансплантации, развившиеся осложнения, в том числе острая и хроническая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ).

В 2017 г. опубликован обзор литературы [42], в котором авторы, Morrison et al., изучили приверженность к лекарственной терапии у пациентов после алло-ТГСК. Описано 5 научных исследований, 2 исследования проведены на взрослых пациентах, 2 — на педиатрических, и одна работа включала и взрослых, и детей. Приверженность в основном оценивали с помощью объективных методов (подсчет таблеток), в одном исследовании оценку проводили с помощью анкеты D. Morisky.

Phipps и DeCuir-Whalley изучали приверженность у стационарных пациентов [43], Hoodin, а также Martin et al. работали с пациентами на стационарном и амбулаторных этапах [44, 45], в работах Chieng et al. и McGrady et al. описаны только амбулаторные пациенты [46, 47]. Все работы за исключением одной носили проспективный характер. По данным обзора, приверженность к лекарственной терапии в указан-

ных исследованиях варьировала от 33% до 94,7%. Однако сложно сделать выводы по обзору, так как дизайн исследований и методы оценки разные. Ни в одном исследовании не проводили оценку приверженности к модификации образа жизни, медицинскому сопровождению. Не были также озвучены предикторы неприверженности.

Более крупное исследование провели специалисты из клиники Мейо, Ice et al. [48]. Работа носила проспективный характер, авторы работали с 200 амбулаторными пациентами, опрашивали их через 3 месяца и более после алло-ТГСК. В исследовании использовали анкету D. Morisky (MMAS) и шкалу, с помощью которой оценивают приверженность к иммуносупрессивной терапии (ITAS) [49]. В результате 51% реципиентов аллогенных ГСК оказались неприверженными к какой-либо лекарственной терапии, а более трети (38%) пациентов — неприверженными конкретно к иммуносупрессивным препаратам. Основными факторами риска несоблюдения режима лечения были молодой возраст ($p = 0,009$), тревожное и депрессивное расстройства ($p = 0,59$). Также авторы обнаружили связь между развитием хронической РТПХ и низкой приверженностью к лечению ($p = 0,042$).

Многоцентровое исследование провели Belaiche et al. [50]. В исследовании участвовали 19 центров во Франции, осуществляющие алло-ТГСК. Было включено 242 реципиента, 203 — взрослых и 39 — педиатрических. В своей работе авторы использовали разработанный тест оценки CET (Compliance Evaluation Test), рекомендованный французской системой здравоохранения. Через 3—6 месяцев после алло-ТГСК опрашивали пациентов, которые получали иммуносупрессивную терапию. В результате у 18,8% взрослых реципиентов приверженность к лечению была оценена как хорошая, у 72,4% — как умеренная и у 8,9% — как плохая. При этом у не соблюдающих режим пациентов наблюдалось значительно больше побочных эффектов, чем в группе приверженных [46,3% (неприверженные) против 22,2% (приверженные) соответственно, $p = 0,009$]. Гораздо больше пациентов, не соблюдающих режим, получали циклоспорин (87,3% против 69%, $p = 0,023$), валацикловир или ацикловир (89,6% против 73,6%, $p = 0,023$). Немногочисленность педиатрической популяции не позволила сделать какой-либо вывод.

Связь между приверженностью к лечению и хронической РТПХ показали Gresch et al. [51], которые провели проспективное исследование, включившее 99 пациентов. Оценка проводилась с помощью Базельской шкалы приверженности к иммуносупрессивной терапии (BAASIS) [52]. Среди пациентов с легким течением РТПХ 48,1% были не привержены к иммуносупрессивной терапии. В группе пациентов со средним течением доля неприверженных составила 37%, среди

пациентов с тяжелым течением — 14,8%. Статистический анализ показал связь между неприверженностью и более тяжелыми степенями хронической РТПХ ($p = 0,012$).

Приверженность — это динамичный процесс, который необходимо контролировать. Медицинские работники должны иметь возможность оценить готовность пациента к соблюдению режима лечения, дать совет о том, как это сделать, и следить за прогрессом пациента при каждом контакте с ним.

После трансплантации как солидных органов, так и аллогенных ГСК следует длительный восстановительный период, требующий строгого соблюдения врачебных рекомендаций, от которых зависят результаты лечения. Исследований приверженности в этой области медицины не так много. Интересно изучать не только уровень приверженности к терапии у реципиентов, но также влияющие факторы, вероятность развития осложнений у неприверженных пациентов, а также результаты трансплантации.

Литература

1. Витч Р. Модели моральной медицины в эпоху революционных изменений. Вопросы философии 1994; 3:67—72.
2. Лукина Ю. В., Кутишенко Н. П., Марцевич С. Ю. Приверженность лечению: современный взгляд на знакомую проблему. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2017; 16(1):91—95. DOI: 10.15829/1728-8800-2017-1-91-95.
3. World Health Organization (WHO); Kisa A, Sabaté E, Nuño-Solín R, Karkashian C. Adherence to long-term therapies: Evidence for action. Geneva: World Health Organization; 2003. 196 p.
4. Драпкина О. М., Ливзан М. А., Мартынов А. И. и др. Первый российский консенсус по количественной оценке приверженности к лечению: основные положения, алгоритмы и рекомендации. Медицинский вестник Северного Кавказа 2018; 13(1.2):259—271. DOI: 10.14300/mnnc.2018.13039.
5. Anghel LA, Farcas AM, Oprean RN. An overview of the common methods used to measure treatment adherence. Med Pharm Rep 2019; 92(2):117—122. DOI: 10.15386/mpr-1201.
6. Nguyen TM, La Caze A, Cottrell N. What are validated self-report adherence scales really measuring?: a systematic review. Br J Clin Pharmacol 2014; 77(3): 427—445. DOI: 10.1111/bcp.12194.
7. Bailey R, English J, Knee C, Keller A. Treatment adherence in integrative medicine — part one: review of literature. Integr Med (Encinitas) 2021; 20(3):48—60.
8. Morisky DE, Ang A, Krousel-Wood M, Ward HJ. Predictive validity of a medication adherence measure in an outpatient setting. J Clin Hypertens (Greenwich) 2008; 10(5):348—354. DOI: 10.1111/j.1751-7176.2008.07572.x.

9. Svarstad BL, Chewning BA, Sleath BL, Claesson C. The Brief Medication Questionnaire: a tool for screening patient adherence and barriers to adherence. *Patient Educ Couns* 1999; 37(2):113—124. DOI: 10.1016/s0738-3991(98)00107-4.
10. Kim MT, Hill MN, Bone LR, Levine DM. Development and testing of the Hill-Bone Compliance to High Blood Pressure Therapy Scale. *Prog Cardiovasc Nurs* 2000; 15(3):90—96. DOI: 10.1111/j.1751-7117.2000.tb00211.x.
11. Thompson K, Kulkarni J, Sergejew AA. Reliability and validity of a new Medication Adherence Rating Scale (MARS) for the psychoses. *Schizophr Res* 2000; 42(3):241—247. DOI: 10.1016/s0920-9964(99)00130-9.
12. Risser J, Jacobson TA, Kripalani S. Development and psychometric evaluation of the Self-Efficacy for Appropriate Medication Use Scale (SEAMS) in low-literacy patients with chronic disease. *J Nurs Meas* 2007; 15(3):203—219. DOI: 10.1891/106137407783095757.
13. Morisky DE, Green LW, Levine DM. Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care* 1986; 24(1):67—74. DOI: 10.1097/00005650-198601000-00007.
14. Pineiro F, Gil V, Donis M et al. The validity of 6 indirect methods for assessing drug treatment in arterial hypertension. *Aten Primaria* 1997; 19(7):372—374, 376 (Spanish).
15. García A, Leiva F, Martos F et al. How to diagnose adherence to treatment in primary health care? *Medicina de Familia* 2000; 1:13—19.
16. Marcus A. Pay up or retract? Drug survey spurs conflict. *Science* 2017; 357(6356):1085—1086. DOI: 10.1126/science.357.6356.1085.
17. Марцевич С. Ю., Лукина Ю. В., Кутишенко Н. П. и др. Приверженность к приему новых оральных антикоагулянтов у пациентов с фибрилляцией предсердий в реальной клинической практике (результаты исследования АНТЕЙ). *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 2019; 15(6):864—872. DOI: 10.20996/1819-6446-2019-15-6-864-872.
18. Фофанова Т. В., Агеев Ф. Т., Смирнова М. Д. и др. Отечественный опросник приверженности терапии: апробация и применение в амбулаторной практике. *Системные гипертензии* 2014; 11(2):13—16.
19. Лукина Ю. В., Кутишенко Н. П., Марцевич С. Ю., Драпкина О. М. Опросники и шкалы для оценки приверженности к лечению — преимущества и недостатки диагностического метода в научных исследованиях и реальной клинической практике. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2020; 19(3):2562. DOI: 10.15829/1728-8800-2022-3235.
20. Николаев Н. А., Скирденко Ю. П. Российский универсальный опросник количественной оценки приверженности к лечению (КОП-25). *Клиническая фармакология и терапия* 2018; 27(1):74—78.
21. Лысенко Ю. С., Микита О. Ю., Пинчук А. В., Хубутя А. Ш. Приверженность к лечению пациентов с хронической почечной недостаточностью до и после трансплантации почки. *Вестник психотерапии* 2020; 5(80):60—66. DOI: 10.20996/1819-6446-2021-12-12.
22. Burnier M, Brunner HR. Impact on clinical outcomes. In: Burke LE, Ockene IS (editors). *Compliance in healthcare and research*. Armonk (NY): Futura; 2001. P. 299—316.

23. Rudman LA, Gonzales MH, Borgida E. Mishandling the gift of life: Noncompliance in renal transplant patients. *J Appl Soc Psychol* 1999; 29(4):834–851. DOI: 10.1111/j.1559-1816.1999.tb02028.x.
24. Wright S. Patient satisfaction in the context of CANCER care. *The Ir J Psychol* 1998; 19(2–3):274–282. DOI: 10.1080/03033910.1998.10558190.
25. Dew MA. Behavioral factors in heart transplantation: Quality of life and medical compliance. *J Appl Biobehav Res* 1994; 2(1):28–54. DOI: 10.1111/j.1751-9861.1994.tb00037.x.
26. Harper RG, Chacko RC, Kotik-Harper D et al. Self-report evaluation of health behavior, stress vulnerability, and medical outcome of heart transplant recipients. *Psychosom Med* 1998; 60(5):563–569. DOI: 10.1097/00006842-199809000-00009.
27. Godding V, Kruth M, Jamart J. Joint consultation for high-risk asthmatic children and their families, with pediatrician and child psychiatrist as co-therapists: model and evaluation. *Fam Process* 1997; 36(3):265–280. DOI: 10.1111/j.1545-5300.1997.00265.x.
28. Wamboldt FS, Wamboldt MZ, Gavin LA et al. Parental criticism and treatment outcome in adolescents hospitalized for severe, chronic asthma. *J Psychosom Res* 1995; 39(8):995–1005. DOI: 10.1016/0022-3999(95)00507-2.
29. Romero MI, Portilla L, Martin E. El apoyo social y su papel en la Diabetes Mellitus: consideraciones teoricas y resultados. *Av Pisco Clin Latinonoam* 1992; 10:81–86.
30. Burnett KF, Taylor CB, Agras WS. Ambulatory computer-assisted behavior therapy for obesity: An empirical model for examining behavioral correlates of treatment outcome. *Comput Hum Behav* 1992; 8(2–3):239–248. DOI: 10.1016/0747-5632(92)90008-3.
31. Mattson ME, Del Boca FK, Carroll KM et al. Compliance with treatment and follow-up protocols in project MATCH: predictors and relationship to outcome. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22(6):1328–1339.
32. Whitlock EP, Vogt TM, Hollis JF, Lichtenstein E. Does gender affect response to a brief clinic-based smoking intervention? *Am J Prev Med* 1997; 13(3): 159–166.
33. Tan BK, Bee PC, Chua SS, Chen LC. Monitoring and improving adherence to tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukemia: a systematic review. *Patient Prefer Adherence* 2021; 15:2563–2575. DOI: 10.2147/PPA.S269355.
34. Tan BK, Chua SS, Chen LC et al. Efficacy of a medication management service in improving adherence to tyrosine kinase inhibitors and clinical outcomes of patients with chronic myeloid leukaemia: a randomised controlled trial. *Sup Care Cancer* 2020; 28(7):3237–3247. DOI: 10.1007/s00520-019-05133-0.
35. Leader A, Benyamini N, Gafter-Gvili A et al. Effect of adherence-enhancing interventions on adherence to tyrosine kinase inhibitor treatment in chronic myeloid leukemia (TAKE-IT): a quasi-experimental pre-post intervention multicenter pilot study. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2018; 18(11):e449–e461. DOI: 10.1016/j.clml.2018.06.026.

36. Чельшева Е. Ю., Галактионова А. В., Туркина А. Г. Проблема приверженности терапии хронического миелолейкоза: понять пациента и найти решения. *Клиническая онкогематология* 2013; 6(2):157—165.
37. Ионова Т. И., Никитина Т. П., Ломаиа Е. Г. и др. Показатели качества жизни, профиль симптомов и клинический эффект терапии второй линии дазатинибом у больных хроническим миелолейкозом при резистентности или непереносимости предшествующей терапии иматинибом: результаты 2-летнего мониторинга. *Онкогематология* 2015; 10(3):18—27.
38. Villeneuve C, Rousseau A, Rerolle JP et al. Adherence profiles in kidney transplant patients: Causes and consequences. *Patient Educ Couns* 2020; 103(1):189—198. DOI: 10.1016/j.pec.2019.08.002.
39. Villeneuve C, Laroche ML, Essig M et al. Evolution and determinants of health-related quality-of-life in kidney transplant patients over the first 3 years after transplantation. *Transplantation* 2016; 100(3):640—647. DOI: 10.1097/tp.0000000000000846.
40. Rodrigue JR, Nelson DR, Hanto DW et al. Patient-reported immunosuppression nonadherence 6 to 24 months after liver transplant: association with pretransplant psychosocial factors and perceptions of health status change. *Prog Transplant* 2013; 23(4):319—328. DOI: 10.7182/pit2013501.
41. Bertram A, Fuge J, Suhling H et al. Adherence is associated with a favorable outcome after lung transplantation. *PLoS One* 2019; 14(12):e0226167. DOI: 10.1371/journal.pone.0226167
42. Morrison CF, Martsolf DM, Wehrkamp N et al. Medication adherence in hematopoietic stem cell transplantation: a review of the literature. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23(4):562—568. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.01.008.
43. Phipps S, DeCuir-Whalley S. Adherence issues in pediatric bone marrow transplantation. *J Pediatr Psychol* 1990; 15(4):459—475. DOI: 10.1093/jpepsy/15.4.459.
44. Hoodin F. Psychological and behavioral correlates of medical adherence among adult bone marrow transplantation recipients. Ph. D. dissertation. Detroit (MI): Wayne State University; 1993. Available at ProQuest Dissertations and Theses (accession order No. AAT 9418172).
45. Martin PJ, Furlong T, Rowley SD et al. Evaluation of oral beclomethasone dipropionate for prevention of acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(6):922—929. DOI: 10.1016/j.bbmt.2011.11.010.
46. Chieng R, Coutsouvelis J, Poole S et al. Improving the transition of highly complex patients into the community: impact of a pharmacist in an allogeneic stem cell transplant (SCT) outpatient clinic. *Support Care Cancer* 2013; 21(12): 3491—3495. DOI: 10.1007/s00520-013-1938-9.
47. McGrady ME, Williams SN, Davies SM, Pai AL. Adherence to outpatient oral medication regimens in adolescent hematopoietic stem cell transplant recipients. *Eur J Oncol Nurs* 2014; 18(2):140—144. DOI: 10.1016/j.ejon.2013.11.007.
48. Ice LL, Bartoo GT, McCullough KB et al. A prospective survey of outpatient medication adherence in adult allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26(9):1627—1634. DOI: 10.1016/j.bbmt.2020.05.020.

49. Chisholm MA, Lance CE, Williamson GM, Mulloy LL. Development and validation of the immunosuppressant therapy adherence instrument (ITAS). *Patient Educ Couns* 2005; 59(1):13—20. DOI: 10.1016/j.pec.2004.09.003.
50. Belaiche S, Decaudin B, Caron A et al. Medication non-adherence after allogeneic hematopoietic cell transplantation in adult and pediatric recipients: a cross sectional study conducted by the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy. *Fundam Clin Pharmacol* 2021; 35(2):435—445. DOI: 10.1111/fcp.12593.
51. Gresch B, Kirsch M, Fierz K et al. Medication nonadherence to immunosuppressants after adult allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: a multi-centre cross-sectional study. *Bone Marrow Transplant* 2017; 52(2):304—306. DOI: 10.1038/bmt.2016.262.
52. Dobbels F, Berben L, De Geest S et al. The psychometric properties and practicability of self-report instruments to identify medication nonadherence in adult transplant patients: a systematic review. *Transplantation* 2010; 90(2):205—219. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181e346cd.

Глава 30.

Алгоритмы наблюдения и лабораторного мониторинга за пациентами после трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток

Общие положения

После трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) в целях своевременного выявления и предупреждения осложнений, рецидивов основного заболевания, иных патологических состояний, их профилактики и своевременного осуществления медицинской реабилитации необходимо обследование пациентов с определенной периодичностью, в том числе дистанционное с использованием телемедицинских технологий. Наблюдение за больными после алло-ТГСК включает в себя проведение медицинского осмотра, лабораторные и инструментальные методы обследования.

Основными медицинскими показателями наблюдения за больными после алло-ТГСК являются: предотвращение и выявление посттрансплантационных осложнений на ранних стадиях и обострений хронических заболеваний у реципиентов аллогенных гемопозитических стволовых клеток (ГСК), сокращение числа случаев и количества дней временной нетрудоспособности реципиентов аллогенных ГСК, уменьшение числа госпитализаций таких больных, сокращение числа рецидивов гемобластозов, уменьшение частоты, снижение показателей смертности, достижение целевых значений показателей состояния здоровья реципиентов аллогенных ГСК.

Наблюдение осуществляют медицинские работники медицинской организации, где пациент получает первичную специализированную медико-санитарную помощь: врач-гематолог, врач-онколог, врач — детский онколог, врач аллерголог-иммунолог и врачи других специальностей.

Помимо наблюдения необходимо обучение пациентов после алло-ТГСК навыкам самоконтроля за состоянием здоровья, а также алгоритмам действия в случае развития осложнений. Это обучение может быть реализовано как во время личной беседы врача и пациента, так при проведении школ пациентов, распространении информационных брошюр.

Наблюдение за пациентами после алло-ТГСК проводят пожизненно. Однако сроки наблюдения и частота мониторинга зависят от времени после алло-ТГСК. В табл. 1 представлена примерная частота визитов пациентов после алло-ТГСК в зависимости от времени, прошедшего после алло-ТГСК.

Таблица 1. Частота визитов к врачу после алло-ТГСК

Время после алло-ТГСК	Рекомендованная частота визитов и медицинского обследования
Первые 100 дней	Не реже 1 раза в 30 дней
От 100 дней до 1 года	Не реже 1 раза в 90 дней
От 1 года до 5 лет	Не реже 2 раз в год; выполнение контрольного обследования на предмет ремиссии заболевания (ПКМ, ПЭТ-КТ и др.) 1 раз в год (при наличии показаний чаще)
От 5 до 10 лет	Не реже 1 раза в год, при наличии показаний чаще; выполнение контрольного обследования на предмет ремиссии заболевания (ПКМ, ПЭТ-КТ и др.) при наличии показаний
После 10 лет	Не реже 1 раза в год; выполнение контрольного обследования на предмет ремиссии заболевания (ПКМ, ПЭТ-КТ и др.) при наличии показаний
При развитии РТПХ, рецидива, других осложнений	Частота визитов и медицинского обследования может быть увеличена
ПКМ — пункция костного мозга; ПЭТ-КТ — позитронно-эмиссионная томография — компьютерная томография; РТПХ — реакция «трансплантат против хозяина».	

Во время обследования врач должен оценить приверженность к терапии и эффективность ранее назначенного лечения, при необходимости выполнить коррекцию и провести дополнительное обследование, профилактическое консультирование, назначить по медицинским показаниям дополнительные визиты, госпитализацию в круглосуточный или дневной стационар, а также выполнение иных лечебных и реабилитационных мероприятий.

Лабораторные исследования

1. Общий анализ крови (ОАК). Выполняют в контрольные сроки наблюдения. В случае снижения показателей крови (концентрация гемоглобина < 80 г/л, количество тромбоцитов $< 50 \times 10^9$ /л, количество лейкоцитов $< 1,5 \times 10^9$ /л) исследование проводят с недельными интервалами или чаще.
2. Биохимический анализ проводят в контрольные сроки наблюдения.
 - Исследование функции печени: общий белок, альбумин, билирубин, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ). Обязательно выполнение пациентам, получающим иммуносупрессивные препараты или другие гепатотоксические препараты, такие, например, как вориконазол и др.
 - Исследование функции почек: сывороточный креатинин, мочевины. Обязательно выполнение пациентам, получающим циклоспорин, такролимус или другие нефротоксические препараты. В случае повышения уровня креатинина может потребоваться коррекция дозы таких препаратов, как циклоспорин, такролимус, валганцикловир, ацикловир и др.
 - Исследование электролитов: калий, магний, кальций. На фоне приема иммуносупрессивных и сопроводительных препаратов нередко может развиваться дефицит этих электролитов, в связи с чем необходим их мониторинг.
3. Исследование содержания глюкозы в крови. Пациентам, получающим глюкокортикоиды, необходимо проводить скрининг на гипергликемию. Высокие дозы глюкокортикоидов, повышение резистентности к инсулину, иммуносупрессивные препараты могут привести к развитию посттрансплантационного сахарного диабета, как за счет снижения секреции инсулина, так и вследствие развития резистентности к нему. Необходимо наблюдение у эндокринолога пациентов с повышенной концентрацией глюкозы до алло-ТГСК и стероидным диабетом.
4. Концентрация лекарственных веществ. Концентрацию циклоспорина или такролимуса в крови следует контролировать после начала терапии не реже одного раза в неделю до достижения терапевтической концентрации, далее не менее двух раз в месяц до тех пор, пока они не останутся стабильными в пределах терапевтического диапазона. Концентрацию сиролимуса следует контролировать не реже чем один раз в 5 дней до тех пор, пока она не станет стабильной и не будет выше 10 нг/дл. При плановой отмене препаратов в большинстве случаев контроль концентрации проводить нецелесообразно.

Концентрацию сиролимуса, циклоспорина или такролимуса следует проверять чаще при подозрении на токсичность (тромбоцитопения, анемия, нарушение функции почек, повышение уровней билирубина, креатинина, развитие электролитных нарушений, развитие тремора или других неврологических симптомов). Ряд лекарственных препаратов могут изменять концентрацию этих иммуносупрессивных средств, поэтому необходимо проверять лекарственные взаимодействия, описанные в инструкции по применению препарата.

5. Липидный профиль: общий холестерин (ОХС), холестерин (ХС) липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов высокой плотности (ЛПВП). Рекомендуется выполнение из-за повышенного риска сердечно-сосудистых осложнений и метаболического синдрома у пациентов после алло-ТГСК.
Контроль липидного профиля рекомендован всем пациентам, особенно получающим сиролимус, такролимус или циклоспорин. В случае выявления нарушения липидного профиля проводится консультация кардиолога и коррекция указанных изменений.
6. Тиреоидные гормоны: тиреотропный гормон (ТТГ), трийодтиронин (Т3), тироксин (Т4) — следует контролировать из-за увеличения частоты заболеваний щитовидной железы после алло-ТГСК, в основном гипотиреоза. Пациентам, у которых выявлены нарушения функции щитовидной железы, рекомендовано наблюдение у эндокринолога.
7. Половые гормоны и гормоны, необходимые для оценки фертильности: фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), эстрадиол/тестостерон, антимюллеров гормон (АМГ) / ингибин В. Недостаточность функции яичников и гипогонадизм являются частыми осложнениями у молодых пациентов после алло-ТГСК. Оценку рекомендуется производить через 6 месяцев после алло-ТГСК. Заместительная гормональная терапия может быть предусмотрена после консультации врачей акушера-гинеколога и эндокринолога.
8. Посев крови следует брать по клиническим показаниям, то есть при фебрильной лихорадке, однако у пациентов, принимающих глюкокортикоиды, показанием для взятия посева крови может быть и субфебрильная температура тела.
9. Мониторинг копий ДНК цитомегаловируса (ЦМВ) в крови. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) является стандартным методом контроля за ЦМВ-инфекцией. Реципиентам аллогенных ГСК целесообразно еженедельно контролировать количество копий ДНК ЦМВ в крови до 100-го дня после трансплантации.
10. После 100-го дня после алло-ТГСК ЦМВ-мониторинг рекомендовано продолжать до одного года после трансплантации пациентам с риском поздней ЦМВ-инфекции:

- Пациентам, получавшим лечение по поводу ЦМВ-инфекции в первые 100 дней после алло-ТГСК.
- Реципиентам пуповинной крови, сероположительным по ЦМВ.
- Пациентам, получавшим антитимоцитарный глобулин (АТГ) при кондиционировании или по поводу РТПХ.
- Пациентам, получающим $> 0,5$ мг/кг в сутки преднизолона по поводу как острой, так и хронической РТПХ.
- Пациентам с резистентными к глюкокортикоидам формам РТПХ. Частота наблюдения за такими пациентами (за исключением реципиентов пуповинной крови):
 - ▲ примерно один раз в две недели;
 - ▲ наблюдение может быть полностью прекращено после 2 отрицательных тестов, если продолжается снижение доз иммуносупрессивной терапии;
 - ▲ возобновление еженедельного тестирования на маркеры ЦМВ, если иммуносупрессивная терапия усиливается или возобновляется по поводу РТПХ.

11. Мониторинг вируса Эпштейна—Барр (ВЭБ) и других герпесвирусов — еженедельный контроль до 100-го дня после алло-ТГСК. После 100-го дня — в зависимости от клинической ситуации. В случае, если была терапия АТГ, рекомендован еженедельный мониторинг крови с помощью ПЦР в течение 6 месяцев после последней дозы АТГ (независимо от того, применялся ли АТГ в рамках кондиционирования или по поводу рефрактерной РТПХ) или до достижения абсолютного количества лимфоцитов > 300 клеток/мкл или количества лимфоцитов $CD4^+ > 200$ клеток/мкл.

12. Мониторинг показателей, характерных для основного заболевания.

Пункцию костного мозга (ПКМ) рекомендуется проводить в соответствии с интервалами, указанными в табл. 2. ПКМ должна включать в себя как минимум: морфологическое исследование, приживление трансплантата также можно оценить с помощью как молекулярного, так и цитогенетического исследований (XX/XY при несовпадении по полу между донором и реципиентом). Исследование ПКМ может быть расширено за счет выполнения иммунофенотипического цитогенетического, молекулярного и других исследований, что зависит от первоначального диагноза и выявленных до алло-ТГСК цитогенетических и молекулярных нарушений.

Помимо этого, дополнительно ПКМ может быть выполнена в случае таких клинических ситуаций, как: снижение показателей гемограммы, наличие лейкоцитоза, выявление бластных клеток в мазке периферической крови, выявление экстрамедуллярного рецидива, появление смешанного химеризма или признаков основного заболевания по результатам предыдущих анализов.

Таблица 2. Перечень медицинских исследований и иных медицинских мероприятий, проводимых в рамках наблюдения реципиентов аллогенных ГСК

Осмотр, исследование, мероприя- тие	Время после проведения трансплантации алло-ТГСК							Обязательные обследования при диагностике, стадировании и оценке эффек- тивности лече- ния РТПХ	
	Через 1 мес	Через 2 мес	Через 3 мес	Через 6 мес	Через 9 мес	Через 12 мес	От 1 года до 5 лет после алло-ТГСК		Более 5 лет после алло-ТГСК
Опрос (анкетирование)	+	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 6 мес	+	+
Прием (осмотр, консультация) врача-специалиста*	+	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 6 мес	+	+
Измерение массы тела, роста, артериального давления, абсо- лютного или относительного сердечно-сосудистого риска	+	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 6 мес	+	+
Статус по шкале ECOG	+	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 6 мес	+	+
Электрокардиография (ЭКГ)	+			+		+	+, 1 раз в 6 мес	+	+
Эхокардиография (ЭхоКГ)				+		+	+, при на- личии по- казаний	+, при на- личии по- казаний	+, при РТПХ легких, поли- серозите
Рентгенография легких							+, 1 раз в 12 мес	+	
Компьютерная томография ор- ганов грудной полости**				+		+	+, при на- личии по- казаний	+, при на- личии по- казаний	+, при РТПХ легких, поли- серозите
Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной поло- сти и малого таза: у жен- щин — УЗИ поджелудочной железы, почек, матки и яични- ков; у мужчин — УЗИ подже- лудочной железы, почек и предстательной железы				+		+	+, 1 раз в 3 года	+, 1 раз в 3 года	+, при РТПХ кишечника и/или печени
Магнитно-резонансная томо- графия (МРТ), в том числе МРТ печени, селезенки для оценки перегрузки железом							+, при на- личии по- казаний	+, при на- личии по- казаний	+, при нали- чии показаний
Исследование функции внеш- него дыхания (ФВД) (спиро- графия)			+	+	+	+	+, 1 раз в 6 мес	+	+
Эзофагогастродуоденоскопия	В 45 лет и при наличии показаний							+, при РТПХ кишечника и/или слизи- стых	

Таблица 2 (продолжение). Перечень медицинских исследований и иных медицинских мероприятий, проводимых в рамках наблюдения реципиентов аллогенных ГСК

Осмотр, исследование, мероприятие	Время после проведения трансплантации алло-ТГСК						Обязательные обследования при диагностике, стадировании и оценке эффективности лечения РТПХ
	Через 1 мес	Через 2 мес	Через 3 мес	Через 6 мес	Через 9 мес	Через 12 мес	
Колоноскопия	При наличии показаний						+, при РТПХ кишечника
Остеоденситометрия поясничного отдела позвоночника, шейки бедренной кости					+	+, 1 раз в 12 мес	+
Маммография у женщин, начиная с 25 лет					+	+, 1 раз в 2 года	+, 1 раз в 2 года
Общий (клинический) анализ крови**	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 6 мес	+
Анализ крови биохимический: общий белок, альбумин, билирубин, АСТ, АЛТ, ЩФ, ЛДГ, ГГТ, креатинин, мочеви́на, калий, кальций, магний, железо	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 6 мес	+
Сывороточный ферритин (обязательно выполнение через +6, +12 мес после алло-ТГСК)			+		+	+, 1 раз в 12 мес в случае повышенных значений в ранее проведенном исследовании	
Исследование концентрации глюкозы в крови	+	+	+			+, 1 раз в 6 мес	+
Определение основных групп по системе АВ0 и антигена D системы Резус (резус-фактор)	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 12 мес	+
Молекулярно-генетическое исследование крови: вирусы простого герпеса типа 1 и 2, ЦМВ, герпесвирус человека типа 6, вирус Эпштейна—Барр	+	+	+	+	+	+, при наличии показаний	+
Общий (клинический) анализ мочи	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 6 мес	+
Исследование кала на скрытую кровь иммунохимическим методом (в возрасте от 48 до 75 лет)					+	+, 1 раз в 2 года	+, 1 раз в 2 года
Коагулограмма (АЧТВ, МНО, ТВ, фибриноген)	+		+	+	+	+, 1 раз в 12 мес	+
Липидный профиль (ОХС, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП)			+		+	+, 1 раз в 12 мес	+

Таблица 2 (продолжение). Перечень медицинских исследований и иных медицинских мероприятий, проводимых в рамках наблюдения реципиентов аллогенных ГСК

Осмотр, исследование, мероприятие	Время после проведения трансплантации алло-ТГСК						Обязательные обследования при диагностике, стадировании и оценке эффективности лечения РТПХ
	Через 1 мес	Через 2 мес	Через 3 мес	Через 6 мес	Через 9 мес	Через 12 мес	
Исследование гормонов щитовидной железы (обязательно ТТГ, при наличии показаний — Т3, Т4)				+		+	+, 1 раз в 3 года
ФСГ, ЛГ, глобулин, связывающий половые гормоны (ГСПГ), эстрадиол/тестостерон, АМГ / ингибин В	У молодых пациентов репродуктивного периода, планирующих беременность, или при аменорее назначение/коррекция заместительной гормональной терапии						
Прием (осмотр, консультация) врача-эндокринолога					+	+	+, при наличии показаний
Определение уровня простатического специфического антигена (ПСА)	Для мужчин старше 45 лет 1 раз в 5 лет						
Исследование концентрации иммуносупрессивных лекарственных препаратов (такролимуса, циклоспорина, сиролимуса)	При приеме указанных лекарственных препаратов исследование концентрации проводится 1 раз в 7—14 дней до достижения устойчивой терапевтической концентрации в плазме крови при отсутствии токсических эффектов.						
УЗИ толщины стенки кишечника							+, при РТПХ кишечника
Исследование уровня кальпротектина в кале							+, при РТПХ кишечника
Микробиологическое исследование кишечного отделяемого							+, при РТПХ кишечника
Молекулярно-биологическое исследование биоптатов органов: вирусы простого герпеса типа 1 и 2, ЦМВ, герпесвирус человека типа 6, вирус Эпштейна—Барр							+
Определение маркеров вирусных гепатитов: поверхностного антигена вируса гепатита В (HbsAg), ДНК вируса гепатита В, антител к вирусу гепатита С, РНК вируса гепатита С, антител к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1/2 и антигена р24 в крови				+		+	+, 1 раз в 12 мес

Таблица 2 (продолжение). Перечень медицинских исследований и иных медицинских мероприятий, проводимых в рамках наблюдения реципиентов аллогенных ГСК

Осмотр, исследование, мероприятие	Время после проведения трансплантации алло-ТГСК							Обязательные обследования при диагностике, стадировании и оценке эффективности лечения РТПХ
	Через 1 мес	Через 2 мес	Через 3 мес	Через 6 мес	Через 9 мес	Через 12 мес	От 1 года до 5 лет после алло-ТГСК	
Биопсия кожи/кишечника/печени/почки/легкого** (при наличии показаний)								+, для проведения дифференциального диагноза
Патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала: кожи/кишечника/печени/почки/легкого								+, в случае проведения биопсии
Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) с бактериологическим и молекулярно-биологическим исследованиями жидкости на наличие патогенной бактериальной, вирусной и грибковой флоры								+, при РТПХ легких
Микробиологическое исследование отделяемого слизистых, биоптатов органов								+, для дифференциальной диагностики
Прием (осмотр, консультация) врача-гастроэнтеролога, пульмонолога, ревматолога, уролога, дерматовенеролога, физиотерапевта, невролога, эндокринолога и иных специалистов	При наличии показаний							
Прием (осмотр, консультация) офтальмолога с измерением внутриглазного давления		+	+		+	+, 1 раз в 12 мес	+, 1 раз в 12 мес	+, при РТПХ слизистых
Прием (осмотр, консультация) врача акушера-гинеколога, включая взятие мазка (соскоба) с поверхности шейки матки (наружного маточного зева) и цервикального канала на цитологическое исследование (у женщин в возрасте от 18 до 75 лет включительно, далее при наличии показаний)					+	+, 1 раз в 12 мес	+, 1 раз в 12 мес	+, при РТПХ слизистых
Прием (осмотр, консультация) врача-стоматолога			+		+	+, 1 раз в 12 мес	+, 1 раз в 12 мес	+, при РТПХ слизистых

Таблица 2 (окончание). Перечень медицинских исследований и иных медицинских мероприятий, проводимых в рамках наблюдения реципиентов аллогенных ГСК

Осмотр, исследование, мероприятие	Время после проведения трансплантации алло-ТГСК						Обязательные обследования при диагностике, стадировании и оценке эффективности лечения РТПХ	
	Через 1 мес	Через 2 мес	Через 3 мес	Через 6 мес	Через 9 мес	Через 12 мес		
Оценка наличия ремиссии, стабилизации, рецидива или прогрессирования основного заболевания по данным лабораторных и инструментальных исследований	+	+	+	+	+	+	+, 1 раз в 12 мес и при наличии показаний	+, при наличии показаний

* По решению врача-специалиста, проводящего наблюдение, пациент (реципиент) может быть направлен на консультацию к иным врачам-специалистам по профилю выявленных осложнений после алло-ТГСК.

** Биопсия печени, почки, легкого выполняются в стационарных условиях.

Мес — месяц; ECOG — Восточная объединенная онкологическая группа.

После проведения диспансеризации с целью дополнительного обследования и уточнения диагноза заболевания (состояния) может быть выполнен второй этап диспансеризации в соответствии приказом Министерства здравоохранения РФ от 27.04.2021 № 404н «Об утверждении порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения».

Сводные рекомендации по скринингу и профилактике поздних осложнений у пациентов после алло-ТГСК представлены в табл. 3.

Таблица 3. Рекомендации по скринингу и профилактике поздних осложнений у пациентов после алло-ТГСК

Органы/системы/функции	Исследования (частота исследований — см. табл. 2)	Профилактические меры у всех реципиентов алло-ГСК	Особенности мониторинга и наблюдения отдельных групп реципиентов алло-ГСК
Глаза	Офтальмологическое обследование с измерением остроты зрения, оценкой состояния переднего отрезка глаза, осмотром глазного дна. Дополнительные методы: окрашивание конъюнктивы и роговицы флюоресцеином, оценка секреции слезной жидкости (тест Ширмера),	Осмотр офтальмолога	Если наблюдается патология, кратность осмотров может быть увеличена вплоть до 1 раза в неделю в зависимости от тяжести состояния. При купировании симптомов — 1 раз в 3 мес

Таблица 3 (продолжение). Рекомендации по скринингу и профилактике поздних осложнений у пациентов после алло-ТГСК

Органы/системы/функции	Исследования (частота исследований — см. табл. 2)	Профилактические меры у всех реципиентов алло-ГСК	Особенности мониторинга и наблюдения отдельных групп реципиентов алло-ГСК
Глаза	оценка внутриглазного давления (на фоне длительной глюкокортикоидной терапии)		
Ротовая полость	Стоматологическое обследование: оценка полости рта и состояния зубов	Обучение профилактическим методам гигиены полости рта	Пациентам с хронической РТПХ: осмотры полости рта и зубов, кратность осмотров может быть увеличена вплоть до 1 раза в неделю в зависимости от тяжести состояния. Особое внимание уделять возможности возникновения злокачественных новообразований
Кожа	Осмотр дерматолога	Обучение пациентов рутинному самоосмотру кожи, избегать чрезмерного воздействия солнечных лучей без солнцезащитных средств	Пациентам с острой и хронической РТПХ: осмотр дерматолога при диагностике, кратность осмотров может быть увеличена вплоть до 1 раза в неделю в зависимости от тяжести состояния. При необходимости выполнение биопсии кожи с вирусологическим и гистологическим исследованиями. Особое внимание уделять возможности возникновения злокачественных новообразований
Легкие	Функции внешнего дыхания (ФВД). Радиологическое исследование (КТ). Диффузионная способность легких по монооксиду углерода (DLCO) (при наличии показаний). Осциллометрия (при наличии показаний). Бронхоскопия с БАЛ, биопсия (при наличии показаний)	Исследование ФВД, КТ — см. табл. 2. Обследование на предмет хронической РТПХ легких у пациентов с респираторными симптомами. Консультирование по вопросам курения	Проведение ФВД при диагностике хронической РТПХ, и далее в зависимости от ответа один раз в 1—3 мес. При подозрении на хроническую РТПХ легких необходимо выполнение КТ грудной клетки (при возможности с экспираторной КТ с целью оценки воздушных ловушек), другие методы радиологического исследования неинформативны. Контроль терапии при хронической РТПХ легких также проводится только с помощью КТ. При необходимости — выполнение БАЛ, биопсии легкого с вирусологическим, микробиологическим и гистологическим исследованиями

Таблица 3 (продолжение). Рекомендации по скринингу и профилактике поздних осложнений у пациентов после алло-ТГСК

Органы/системы/функции	Исследования (частота исследований — см. табл. 2)	Профилактические меры у всех реципиентов алло-ТГСК	Особенности мониторинга и наблюдения отдельных групп реципиентов алло-ТГСК
Сердечно-сосудистая система	Кумулятивная доза антрациклинов. ЭКГ, ЭхоКГ, липидный профиль натошак, глюкоза крови натошак	Обучение и консультирование по здоровому образу жизни (регулярные физические упражнения, снижение массы тела, отказ от курения, диетическое консультирование)	Раннее устранение факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, таких как сахарный диабет, артериальная гипертензия и дислипидемия
Печень	Исследование функции печени, сывороточный ферритин, УЗИ печени, визуализация перегрузки железом (МРТ), биопсия печени	Мониторинг ферритина через + 6 мес, +12 мес после алло-ТГСК для пациентов, перенесших множественные трансфузии эритроцитов, а также с повышенными печеночными показателями, далее 1 раз в год. При выявлении повышенных показателей выполнение УЗИ/МРТ печени	У пациентов с РТПХ печени рекомендуется более частый мониторинг функции печени, при необходимости выполнение биопсии печени. Пациентам с вирусным гепатитом В и/или С мониторинг вирусной нагрузки с помощью ПЦР, консультация инфекциониста. При наличии показаний выполнение биопсии печени для оценки цирроза у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С
Желудочно-кишечный тракт	Консультация гастроэнтеролога	Рекомендации по соблюдению диетического питания	Пациенты с хронической РТПХ: клиническая и стоматологическая оценка с особым вниманием к раку ротовой полости и глотки. При подозрении на возникновение злокачественных новообразований необходима консультация онколога с проведением комплексного лабораторно-инструментального обследования
Мочевыделительная система	Оценка артериального давления. Креатинин, мочевина в сыворотке. Белок в моче. УЗИ почек, биопсия почки	Оценка функции почек: креатинин, мочевина сыворотки и анализ мочи — см. табл. 2	Нефротический синдром может быть проявлением хронической РТПХ

Таблица 3 (продолжение). Рекомендации по скринингу и профилактике поздних осложнений у пациентов после алло-ТГСК

Органы/системы/функции	Исследования (частота исследований — см. табл. 2)	Профилактические меры у всех реципиентов алло-ТГСК	Особенности мониторинга и наблюдения отдельных групп реципиентов алло-ТГСК
Мышечная система и соединительная ткань	Оценка способности вставать из положения сидя. Клиническая оценка диапазона движений в суставах	Соблюдать общие рекомендации по физической активности для населения	Пациенты с хронической РТПХ (при наличии фасциита или склеродермии, длительного приема глюкокортикоидов): консультация физиотерапевта с клинической оценкой (в том числе выполнение мануальных мышечных тестов). Оценка миопатии у пациентов, принимающих глюкокортикоиды
Костная система	Денситометрия, МРТ для оценки повреждения суставов	Физическая активность, прием витамина D и кальция для предотвращения потери плотности костной ткани	
Нервная система	Клиническая оценка симптомов и признаков неврологической дисфункции		
Эндокринная система	Функциональные тесты щитовидной железы, ФСГ, ЛГ, тестостерон	Проверка функции щитовидной железы ежегодно после ТГСК или при появлении соответствующих симптомов. Клиническая и эндокринологическая оценка яичников у женщин в постпубертатном периоде через 1 год, последующее наблюдение в зависимости от менопаузального статуса. Функцию яичек у мужчин, включая ФСГ, ЛГ и тестостерон, следует оценивать в соответствии с симптомами	Пациенты с РТПХ: медленное снижение дозы глюкокортикоидов у пациентов с длительным приемом глюкокортикоидов

Таблица 3 (окончание). Рекомендации по скринингу и профилактике поздних осложнений у пациентов после алло-ТГСК

Органы/системы/функции	Исследования (частота исследований — см. табл. 2)	Профилактические меры у всех реципиентов алло-ГСК	Особенности мониторинга и наблюдения отдельных групп реципиентов алло-ГСК
Половые органы	Гинекологический осмотр. Осмотр уролога. Маммография. Мазок с шейки матки с окраской по Папанико-лау ПСА	Рекомендации к самообследованию (например, молочных желез). Ежегодный гинекологический осмотр женщин для выявления раннего поражения слизистой оболочки влагалища при РТПХ	Пациенты с хронической РТПХ и после тотального облучения тела: более частый гинекологический осмотр с учетом клинических симптомов. Особое внимание уделять возможности возникновения злокачественных новообразований, таких как рак молочной железы, простаты и т. д.
Фертильность		Консультация пациентов репродуктивного возраста	Направление пациентов, которые планируют беременность, к соответствующим специалистам

Литература

1. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 27.04.2021 № 404н «Об утверждении порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения».
2. Кузьмина Л. А., Паровичникова Е. Н., Клясова Г. А. и др. Протокол терапии острой реакции «трансплантат против хозяина» // Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови / под ред. В. Г. Савченко. М.: Практика, 2018. Т. 2. С. 1041—1066.
3. Drovok M, Yatsyk G, Kireeva A et al. Bowel wall thickness is a strong predictor of steroid-refractory acute graft-versus-host disease with gut involvement after allo-HSCT. *Int J Hematol* 2022; 115(4):545—552.
4. Carpenter P, Boeckh M, Joachim D et al. Long-term follow-up after hematopoietic stem cell transplant. General guidelines for referring physicians. Fred Hutchinson Cancer Center; 2023. 123 p. URL: fredhutch.org/content/dam/www/research/patient-treatment-and-support/ltfu/LTFU_HSCT_guidelines_physicians.pdf.

С. М. Куликов, А. А. Куликовский, Ю. А. Чабаяева,
Е. Н. Паровичникова

Глава 31.

Методические особенности подготовки и анализа данных исследований в области гематологии и трансплантации гемопозитических стволовых клеток

Введение

Не надо рассматривать эту главу как учебник по биостатистике, она предназначена в основном для врачей, биологов, специалистов смежных профессий, не имеющих специализированной математической подготовки. Мы предлагаем читателю набор практических советов о том, как правильно разработать дизайн собственного исследования, какую информационную структуру, кодификаторы и инструменты использовать для удобного и правильного сбора данных, каким образом подготовить данные для анализа и какие методы и инструменты использовать для проведения предварительного (!) анализа. Предварительный анализ, проведенный самостоятельно, позволяет по-новому взглянуть на имеющиеся данные, сформулировать более глубокие вопросы и гипотезы для продвинутого профессионального анализа. Не стоит надеяться, что без консультаций и помощи профессиональных биостатистиков возможно провести полноценный, всесторонний и качественный анализ данных. Но собственными силами возможно грамотно организовать сбор данных, на понятном языке поставить вопросы для анализа, описать результаты. При этом очень важно уметь прочесть и понять, что пишут коллеги, какие методы используют, что получают, как интерпретируют результаты.

Общих учебных пособий по биостатистике, как на русском, так и на английском языке, много. Можно порекомендовать классический, хотя и достаточно старый учебник Гланца [1]. Если говорить об анализе выживаемости, наиболее полное и современное изложение можно найти в книге Lee, Wang [2]. Многие руководства сейчас пишут с ориентацией на конкретное программное обеспечение (ПО) или статистический пакет, но они могут быть использованы и для общего ознакомления с методикой анализа данных [3—6]. Есть специализированные методологические руководства по анализу данных в определенной области исследований: например, в гематологии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) — очень содержательное руководство Iacobelli [7], написанное специально для Европейского общества трансплантации костного мозга (ЕВМТ). Несколько статей методологического плана были написаны с нашим участием [8—10].

Анализ исследований, посвященных ТГСК, кажется достаточно узкой предметной областью. Однако, как и в случае других специальных медицинских исследований, исследования, связанные с трансплантацией, являются стимулом для развития специальных математическо-статистических методов. В представляемом обзоре мы попытались в общих чертах описать те задачи и методы, которые наиболее часто применяют в исследованиях такого рода. На практике, помимо общих биостатистических методов, исследования в области ТГСК используют как простые, так и продвинутые методы событийного анализа, такие как лэндмарк-анализ, анализ изменяемых во времени ковариаторов, анализ конкурирующих рисков и др. Все более часто в этой области собирается информация в виде рядов повторных измерений, данных большой размерности, что ставит новые специальные задачи перед применяемым аналитическим инструментарием.

Ввиду ограниченности объема в этот раздел не вошли описания и примеры из классических разделов биостатистики: анализ таблиц сопряженности, регрессионные модели и дисперсионный анализ, — а также из «продвинутых», таких как анализ повторных наблюдений, логистическая регрессия, эвристические модели распознавания и классификации и другие. Мы надеемся к ним вернуться в следующих публикациях.

Для начала мы хотели остановиться на наиболее важных и специфических для трансплантологии темах. В этой главе будут затронуты следующие темы:

1. Использование простых инструментов сбора данных. Структура и форматы таблиц EXCEL.
2. Производные показатели, необходимые для событийного анализа.
3. ПО, используемое для событийного анализа.

4. Понятия, термины, используемые в событийном анализе онкогематологических данных.
5. Просто оценки Каплана—Майера. Сравнение кривых дожития. Почему надо осторожно расширять анализ выживаемости на события другой природы. Негативные и позитивные события. Как точно мы измеряем время события. Суррогатные события, комбинированные конечные точки и корзины событий.
6. Что такое «гарантированное бессмертие». Методы, позволяющие избегать ошибки в оценках, которые оно вызывает. Ландмарк-анализ, модели Кокса с переменными во времени факторами.
7. Конкурирующие риски и события. Проблемы с конкуренцией факторов.
8. Метчинг, повторяющиеся события.

Для иллюстрации описываемых методов анализа были использованы реальные данные исследований, проводимых в НМИЦ гематологии МЗ РФ с согласия руководителей и участников. Расчеты проводились с помощью процедур аналитической системы SAS 9.4 [11].

Использование простых инструментов сбора данных. Структура и форматы таблиц EXCEL

Профессиональные системы сбора данных клинических исследований могут быть достаточно сложными, и мы не ставили перед собой цели их подробного описания для возможности дальнейшего использования. Для больших клинических исследований и регистров создание электронных средств сбора данных — это отдельная профессиональная сфера деятельности специалистов лицензированных организаций по сопровождению клинических исследований (clinical research organization).

Для индивидуального использования и для сбора данных небольших научных проектов вполне можно пользоваться средствами, предоставляемыми EXCEL.

Таблицы EXCEL являются самыми простыми и часто используемыми средами для сбора данных в клинических исследованиях. Они достаточно универсальны, интуитивно понятны и достаточно гибки для модификации в ходе исследования, хотя это не рекомендуется делать.

Кроме того, базовые функции EXCEL, многочисленные расширения позволяют в самом теле EXCEL реализовать многие служебные функции для расчетов производных показателей, генерации отчетов, контроля ошибок, графики и простой аналитики. Умение работать с

EXCEL является необходимым требованием, предъявляемым к научному сотруднику любой специальности. Поэтому мы будем исходить из условия, что читатель знает базовые функции и атрибуты EXCEL.

Для несложных задач мы рекомендуем использовать EXCEL для сбора данных исследования. Мы будем говорить об универсальных вещах, но учитывать специфику исследований в области ТГСК.

Есть по крайней мере 3 отличительные особенности форматов и структуры данных в исследованиях в этой области:

- 1) много данных типа «дата» — для вычисления и анализа временных интервалов, начиная с возраста и кончая длительностью жизни после ТГСК;
- 2) есть повторяющиеся блоки объективных данных, в которых содержится информация мониторинга;
- 3) в данных есть пропуски. Забегая вперед, скажем, что в EXCEL есть определенные проблемы в работе с пропущенными данными.

Надо понимать ключевой принцип работы с данными таких исследований. Данные собираются для группового (статистического) анализа, а не регистрации, описания отдельных объектов и ведения дневников. Это только кажется банальной истиной. Из этого базового принципа вытекают следующие требования к данным, их структуре и форматам:

1. Таблица — это не дневник для записи и чтения. Таблица должна быть сразу пригодна для статистического анализа. Данные должны записываться единообразно.
2. В таблице должно быть как можно меньше текстовой информации. По возможности все признаки должны быть закодированы числами. Комментарии должны быть вынесены в отдельные признаки (столбцы).
3. Обычно в таблице строки — это объекты исследования (больные).
4. Столбцы — это признаки. В одном признаке должны быть данные строго одного типа и формата. Типы данных: численный, дата, числовой код, текст из справочника, комментариев. Типы, единицы измерений, форматы — должны быть в одном столбце одинаковыми.
5. Таблица должна быть удобной для трансфера ее данных в статистический пакет. То есть таблица должна содержать имена признаков (латинские буквы и цифры), метки признаков — развернутые имена на русском языке, справочники кодов для категориальных данных.

Типовая структура таблицы для сбора данных одномоментного исследования или сбора базовой информации дебюта исследования, как правило, состоит из блоков.

Разберем ее отдельные блоки. Под блоком мы будем подразумевать набор столбцов данных, объединенных их назначением.

Блок идентификационных данных. В зависимости от объема и сложности исследования этот блок может содержать от одного признака (например, просто номер больного) до десятка разных индексов и признаков из области персональных идентификаторов. Идентификационные данные обязательно должны быть в таблице. Они нужны и важны для контроля ошибок, пополнения и апдейта, слияния данных из нескольких таблиц и т. д. Не рекомендуется ограничиваться только номером больного, это может привести к трудностям идентификации при необходимости сливания данных или контроля ошибок в данных. В то же время использование фамилий больных тоже не очень рекомендуется из соображений безопасности, если доступ к данным не будет строго ограничен.

Блок демографических данных. Без демографических данных невозможно ни одно исследование в медицине. Пол и возраст — обязательные признаки-факторы, ассоциированные с любыми объективными клиническими характеристиками. Могут быть интересны для исследования и другие социально-демографические признаки, такие как семейное положение, данные о родственниках, национальность и т. д. Возраст, как переменную величину, в анализе желательно вычислять из даты рождения и контрольной даты, например даты начала терапии.

Блок объективных данных дебюта. Этот блок достаточно объемный и может включать следующие подблоки: диагноз и данные, детализирующие диагноз, клинический статус, лабораторные данные дебюта, идентификаторы воздействия (например, номер терапевтического протокола), информация о трансплантации (тип и др.).

Блок событийной информации. Этот блок содержит индикаторы и даты, описывающие объективные и субъективные события. Начало терапии, ремиссия и ответы на терапию, прогрессия, трансплантация, реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ), рецидивы, инфекционные осложнения, смерть, последний контакт и т. д. Все события описываются как минимум двумя признаками (двумя столбцами): дата события и индикатор цензурирования, указывающий, произошло ли событие в указанную дату или еще не произошло. В случае интервальных данных — указывается дата начала и конца интервала дат, в которые событие произошло.

Блок производных показателей. Для некоторых производных показателей удобно сделать вычисление в самой таблице. Например, можно посчитать процентную долю лейкозных клеток, разделив число обнаруженных лейкозных клеток на общее число проанализированных

клеток. Более сложные вычисления, связанные с каким-либо сложным алгоритмом, лучше делать в теле аналитической программы после трансфера данных. Об этом — чуть позже, после раздела, в котором описываются конечные точки.

Форматы данных. В таблицах, пригодных к анализу, данные одного признака (столбцы) обязательно должны быть одного типа и формата.

Самый простой формат — числовой. Обычно это число с фиксированным количеством десятичных знаков. Здесь главное правильно использовать десятичный разделитель (точка или запятая). Обычно в русской настройке — это запятая. Лучше в настройках WINDOWS указывать точку в качестве десятичного разделителя, тогда точно не будет проблем при экспорте данных. Проблемы возникают, когда в ячейку хотят ввести число и используется не тот разделитель. Тогда число вводится как текстовая строка, и соответственно будут возникать ошибки при вычислениях внутри EXCEL и экспорте данных.

Примером категориальных признаков являются такие признаки, как пол, диагноз, риск-группа, индикаторы наличия/отсутствия чего-либо. Категориальные признаки предполагают наличие словаря-справочника, значения которого служат в качестве меню для ввода данных. Многие аналитические системы могут работать с текстовыми значениями категорий. На первый взгляд пользоваться текстовыми категориями удобнее. Но при простом вводе в таблицу редко настраивают таблицу, так чтобы ввод осуществлялся выбором из меню. При ручном вводе текстовой информации трудно стандартизовать «написание» даже простых категорий. Если в столбец «Пол» для обозначения мужского пола используются синонимы типа: «муж», «Муж.», «М», «М.», «М» (на латинице), то любая аналитическая система, если в нее не встроен искусственный интеллект, прочитает ее 5 разными способами! Человек не различит М в кириллической и М в латинской кодировке, а машина их прочтет по-разному.

Еще одна проблема возникает, когда нужно анализировать ранговые признаки, например группу риска, в которых важен порядок следования категорий. Для некоторых аналитических процедур и систем вывода нужно знать, в каком порядке следуют категории.

Ввиду этих причин мы рекомендуем пользоваться цифровыми кодами при сборе и вводе категориальных данных. Словари-справочники (расшифровки числовых кодов) могут быть представлены внизу каждого столбца, и они будут использоваться при настройке аналитических программ.

Таблица 1. Наиболее распространенные типы данных клинического исследования и их форматы

Тип	Пример	Кодирование, формат, маска	Анализируется
Числовой	Температура	_ _ . _ °C	Все виды анализа, кроме таблиц
Бинарный (две категории)	Есть/нет	0 — нет, 1 — да	Все виды анализа
Категориальный — упорядоченный	Группа риска	0 — низкого, 1 — среднего, 3 — высокого	Да — промежуточный тип между численными и «чисто» категориальными
Категориальный — неупорядоченный	Национальность	Любые цифровые	Да, с ограничениями
Текстовый	Перечень препаратов, мутации	Текст, текст, ...	Требует предварительного синтаксического разбора
Свободный текст	Комментарии		Нет
Дата, время	Дата рождения	dd/mm/yyyy	В основном нужны для вычисления интервалов, например возраста
Событие	Время до смерти	Две переменные: время и индикатор цензурирования или два времени	Да — событийный анализ

Пример реальных данных по результатам ТГСК. В табл. 2 представлены первые несколько строк таблицы данных больных, которым была выполнена ТГСК в НМИЦ гематологии в период с конца 2008 г. по конец 2016 г. Данные собраны в таблицу EXCEL и подготовлены для экспорта в статистический пакет (SAS).

Так как данные были выгружены из базы данных, первая строка таблицы — латинское имя признака из базы. Вторая строка — короткое описание данных на русском языке, это метка (label) переменной, которая будет использована статистическим пакетом для вывода результатов анализа. Третья строка — это «экономные» имена переменных, которые удобно использовать в кодах программ преобразования данных и запросов на анализ. Они могут быть использованы по усмотрению аналитика. В некоторых случаях в программах SAS удобно пользоваться короткими порядковыми именами для операций со списками и массивами переменных.

Рассмотрим примеры признаков из таблицы.

1. Признак x1 (идентификатор) — важный элемент данных, нужный для связывания таблиц данных. В нашем случае, когда таблица

Таблица 2. Пример данных исследования по ТГСК (первые 4 записи)

SystemId	ФИО	Age	GenderCode	BgroupRecip	BresusRecip	DateOTKM	PovtopnayaAllo	DiagnosisDate	DiagnosisCode	StadiaCode	Conditionionirovaniye-Code	BlastBeforeTKM	TransplantatCode	DonorRelativeCode	DonorGenderCode	DonorSovmostiCode	BgroupDonor	BResusDonor	DonorAge	DonorComment	ПрофлактикаRTPX-Code
Идентификатор	Возраст на момент диагноза	Пол	Группа крови реципи- ента	Резус-фактор реципи- ента	Дата трансплантации	Факт повторности трансплантации	Дата диагноза	Код диагноза	Код стадии заболева- ния	Код режима кондици- онирования	Бласты перед ТКМ	Источник трансплан- тата	Тип донора	Пол донора	Код совместимости донора	Группа крови донора	Резус-фактор донора	Возраст донора	Комментарии по донору	Код режима профиза- тики РТПХ	
x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7	x8	x9	x10	x11	x12	x13	x14	x15	x16	x17	x18	x19	x20	x21	x22
1		34	2	2	0	24/10/08	0	06/04/08	7	1	2	4	2	1	2	1	2	1	36	Родная сестра	3
2		38	2	2	1	10/12/08	0	01/07/08	9	3	2	0	2	1	2	1	1	1	42	Родная сестра	3
3		20	2	1	0	17/12/08	0	15/03/08	9	3	2	0	2	1	2	1	1	1	19	Родная сестра	3
4		27	1	2	1	04/02/09	0	15/05/07	6	2	2	2	2	1	2	1	1	1	24	Родная сестра	3

Таблица 2 (окончание). Пример данных исследования по ТГСК (первые 4 записи)

InBefore30	InFrom30To120	VosstanovlenieLeik	DayOfVostanovlenieLeik	VosstanovlenieTromb	DayOfVostanovlenieTromb	Nesostoyatel'nost'Transpl'ntatsii	Transpl'ntatsionLymfocitov	dateOfFirstTranspl'nationLymf	RTPXXhron	RTPXXost	DateOfRTPXXost	Степень РТПХ	RTPXXStepen	RechidivKM	DateOfKMRechidiv	Идентификатор смерти	Дата смерти	Причина смерти	Дата последнего контакта
Индикатор возникновения инфекцион-ных осложнений до 30-го дня	Индикатор возникновения инфекцион-ных осложнений от 30-го до 120-го дня	Индикатор восстановления лейкоцитов	Индикатор восстановления тромбоцитов	Индикатор восстановления тромбоцитов	День восстановления тромбоцитов	Индикатор несостоятельности трансплантации	Идентификатор трансфузии лимфоцитов	Дата первой трансфузии лимфоцитов	Идентификатор хронической РТПХ	Идентификатор острой РТПХ	Дата острой РТПХ	Степень РТПХ	РTPXXStepen	RechidivKM	Дата костномозгового рецидива	Идентификатор смерти	Дата смерти	Причина смерти	Дата последнего контакта
x23	x24	x25	x26	x27	x28	x29	x30	x31	x32	x33	x34	x35	x36	x37	x38	x39	x40	x41	
1	1	1	20	1	13	0	1		1	0				0	17/08/09	1	05/10/11	3	05/10/11
1	1	1	15	1	22	0	0		0	1	25/12/08	2		0		0			13/03/19
1	0	1	28	1	25	0	0		0	0				0		0			13/03/19
1	1	1	20	1	23	0	1	06/02/12	1	1	07/04/09	2	1	1	12/01/12	1	05/07/12	2	05/07/12

- одна, он может быть использован для контроля данных, при обращении к источникам информации
2. Признак x2 (ФИО) в приводимом примере для целей деперсонализации сокращен до двух букв.
 3. Признак x3 — целочисленный показатель — возраст больного.
 4. Признак x4 — кодированный показатель пола. Для целей вывода результатов статистический пакет должен иметь ссылку на справочник кодов. В пакете SAS — для этого служат форматы данных: 1 = «МУЖ», 2 = «ЖЕН».
 5. Признак x7 — это дата трансплантации, признаки x9, x31, x34, x37, x39, x41 — другие ключевые даты. При чтении данных в статистическом пакете с их помощью формируются всевозможные интервалы времени, которые используют в событийном анализе. Например, длительность жизни — это интервал времени от x10 (дата диагноза) до x39 (дата смерти), если больной умер, интервал времени от x10 (дата диагноза) до x41 (дата последнего контакта), если больной жив на момент анализа.
 6. Такие признаки, как x23, x24, x25, x27... — это бинарные индикаторные признаки, принимающие значения: 0 = “нет”, 1 = “да”, — для обозначения факта: произошло ли данное событие или события, например инфекционные осложнения, рецидив, смерть и т. д.

Пример кодов чтения данных и формирования производных показателей. Формирование производных показателей, таких как интервалы времен, риск-группа, возрастная группа, лучше доверить статистическому пакету, а не пытаться их формировать в исходных таблицах. Для этого есть несколько причин. Первая — статистический пакет это делает правильной, так как его встроенные функции корректно работают с пропущенными данными и возможными ошибками. Вторая — при формировании категориальных признаков из целочисленных (типа признака «возрастная группа») при необходимости легче изменить границы разбиения или число градаций в теле самой аналитической программы. Подробнее об этом — в следующем разделе.

Производные показатели.

Если вы все-таки решили это делать сами

В событийном анализе, который является основной темой этого раздела, очень важно описать и правильно представить данные для анализа.

Если вы хотите самостоятельно представить данные для анализа для ввода/импорта в статистический пакет, вам придется сформировать

минимум 2 признака для каждого анализируемого события. В простом случае, когда вы знаете точно саму дату события (например, дату смерти) или дату цензурирующего события (дату последнего наблюдения, контакта с больным), событие представляется двумя признаками числового типа: интервал времени от стартовой даты до даты события или даты цензурирующего события и индекс. Индекс используется для кодирования типа события: 1 — целевое событие (например, смерть), 0 — цензурирующее событие. В более сложном анализе индекс может принимать значение 2 — конкурирующее событие.

Если предполагается использовать интервальный событийный анализ, событие должно описываться двумя временными признаками — начало и конец временного интервала, внутри которого произошло событие.

Итак, в простом случае, пара признаков — «Время от точки начала отсчета до события» и «Индекс» — описывает событие. Время от точки отсчета до события — это дни, месяцы или годы от некоторой стартовой даты до даты события или цензурирующего события. Индекс указывает, произошло событие или только «ожидается».

Как правило, в любом статистическом пакете существует возможность программировать вычисление производных показателей в процессе чтения данных. Так, в системе SAS для этих целей служит шаг DATA с очень удобным и простым языком программирования.

Итак, для передачи данных из EXCEL в статистический пакет мы решили сформировать признак «интервал времени» в теле EXCEL. Это ответственное вычисление, и если вы не уверены, что считаете правильно, то лучше это сделают профессионалы внутри аналитической системы при подготовке данных к анализу.

Вычисление интервала времени или разницы дат

Казалось бы, вычисление интервала между датами — простое дело: это просто разница значений в двух ячейках EXCEL. Однако, когда EXCEL выполняет операцию вычитания, он пустую ячейку считает 0, а если там символьное значение — то сообщает об ошибке.

Совет. Правило при вычислении интервала дат в событийном анализе простое: интервал вычисляется, если известна дата начала интервала и дата конца интервала. Если не известна хотя бы одна из них — результат «пропущенное значение». В EXCEL — это пустая ячейка. «Правильный» статистический пакет ее воспринимает как пропущенное значение и не включает в анализ.

! Не пользуйтесь формулой «разница дат» $\{(\text{РАЗНДАТ}(\text{A2};\text{B2};"d"))\}$ — она в ряде случаев работает неправильно.

Итак, правильная формула в EXCEL, которая вычисляет интервал — это формула:

=ЕСЛИ(И(ЕЧИСЛО(A2);ЕЧИСЛО(B2));B2-A2;""),

где

- начало интервала отсчета времени (начало терапии) указано в ячейке A2, конец указан в B2;
- формула ЕЧИСЛО(A2) — проверяет, лежит ли в ячейке A2 число;
- формула И(...;) — логическое «И».

Подготовка данных для оценок общей выживаемости сводятся к:

- 1) указанию, в каком столбце (признаке) лежит «индекс цензурирования». Это просто столбец «жизненный статус». 1 — смерть, 0 — жив. Значение «0» и есть индикатор цензурирования, указывающий, что событие (смерть) еще не произошло;
- 2) вычислению интервала времени («время жизни», «время дожития») — интервал времени между стартовой датой и датой события или датой цензурирования.

Другие «простые» события и их признаки

Ремиссия (для вычисления вероятности достижения ремиссии). Это «благоприятное» событие. Индекс — простой признак: есть ремиссия («1»), нет («0»). Стартовая точка — обычно начало терапии. Интервал дат в случае, если есть ремиссия, вычисляется обычно. С точкой цензурирования не все просто (см. разд. «Конечные точки»). В зависимости от исследования и цели это могут быть — дата цензурирования, дата смены протокола терапии, дата трансплантации и т. д.

На языке EXCEL — это дополнительное условие для вычисления временного интервала, если индикатор события = 0, то есть если нет ремиссии, надо смотреть дату окончания интервала либо в дату последнего события, либо в дату смены протокола, либо в дату смерти (если не рассматривается модель конкурирующих рисков).

Итак, для расчета интервала надо использовать формулу с условием, то есть

=ЕСЛИ(с2; ЕСЛИ(И(ЕЧИСЛО(A2);ЕЧИСЛО(B2));B2-A2;"");
ЕСЛИ(И(ЕЧИСЛО(A2);ЕЧИСЛО(d2));d2-A2;"")),

где

- начало интервала отсчета времени (начало терапии) указано в ячейке A2, конец (дата ремиссии) указан в B2;
- формула ЕЧИСЛО(A2) — проверяет, лежит ли в ячейке A2 число;
- формула И(...;) — это логическое «И»;
- в ячейке с2 — индикатор события (ремиссия);
- в ячейке d2 — дата цензурирующего события (например, дата последнего контакта).

Если разных дат возможного цензурирования несколько, выполнять расчеты внутри EXCEL крайне не рекомендуется.

Рецидив. Это «неблагоприятное» событие. Индекс — простой признак: есть рецидив («1»), нет («0»). Стартовая точка — дата ремиссии. Если рецидив есть, то интервал вычисляется как разница дат: даты рецидива и даты ремиссии. Здесь также надо следить за тем, чтобы в отсутствие ремиссии пустая ячейка с датой ремиссии не рассматривалась как 0. Когда индекс рецидива = 0, интервал рассчитывается от даты ремиссии до даты цензурирующего события. Цензурирующее событие — последний контакт или смерть. В зависимости от анализа смерть может рассматриваться не как цензурирующее событие, а как конкурирующее событие.

Так же как и для ремиссий, для расчета времени рецидива надо использовать формулу с условием, то есть

=ЕСЛИ(с3; ЕСЛИ(И(ЕЧИСЛО(А3);ЕЧИСЛО(В3));В3-А3;""));
ЕСЛИ(И(ЕЧИСЛО(А3);ЕЧИСЛО(д3));д3-А3;"")),

где

- начало интервала отсчета времени (дата ремиссии) указано в ячейке А3, конец (дата рецидива) указан в В3;
- формула ЕЧИСЛО(А3) — проверяет, лежит ли в ячейке А3 число;
- формула И(...;...) — это логическое «И»;
- в ячейке с3 — индикатор события (рецидив);
- в ячейке д3 — дата цензурирующего события (например, дата последнего контакта).

Обычно даты последнего контакта и даты смерти находятся в одной ячейке (в нашем случае в д3). Если они разнесены в разные столбцы, то нужно вставлять в формулу еще одну проверку на непустое значение.

Мы не будем здесь рассматривать псевдособытия, такие как констатация рефрактерности, то есть недостижение ремиссии после двух курсов. Все-таки математические модели, используемые для событийного анализа, предполагают, что события могут происходить в разное время и целью анализа является получение оценок распределения случайной величины — временного интервала. Рефрактерность — это статус в контрольной точке (окончание 2-го курса), и для ее анализа скорее подходит частотный анализ, логистическая регрессия и т. д.

Комбинированные события

Когда конечная точка является суррогатной, комбинированной и состоит из нескольких событий, то формулы вычисления индекса события и временного интервала становятся более сложными. В формулу

для вычисления временного интервала надо ставить минимальную дату, то есть наиболее раннюю из дат событий, включенных в «корзину» комбинированного события.

Например, датой события для вычисления безрецидивной выживаемости является дата рецидива, если она меньше даты смерти. Но надо учесть «парадокс» EXCEL, что пустая дата интерпретируется как 0, то есть как очень раннее событие. Это значит что простое употребление функции МИН() не годится. Для вычисления времени БСВ надо использовать следующую формулу:

```
=ЕСЛИ(с3; ЕСЛИ(И(ЕЧИСЛО(А3);ЕЧИСЛО(В3));  
ЕСЛИ(С3;В3;D4)-А3;""));  
ЕСЛИ(И(ЕЧИСЛО(А3);ЕЧИСЛО(d2));d3-А3;"")),
```

где

- начало интервала отсчета времени (дата ремиссии) указано в ячейке А3, конец (дата рецидива) указан в В3;
- формула ЕЧИСЛО(А3) — проверяет, лежит ли в ячейке А3 число;
- формула И(...;...) — это логическое «И»;
- в ячейке с3 — индикатор события (рецидив);
- в ячейке d3 — дата цензурирующего события (дата последнего контакта);
- в ячейке d4 — дата смерти.

В разделе «Простой событийный анализ» будут показаны примеры вычислений интервалов времени «внутри» статистического пакета.

Программное обеспечение, используемое для событийного анализа

В этом разделе попробуем разобраться, какие существуют программы для статистического анализа выживаемости, рассмотрим их плюсы и минусы.

Перед выбором ПО для статистического анализа

Заранее стоит сделать несколько важных замечаний:

1. Сразу стоит определить, какой уровень сложности анализа планируется проводить, и исходя из этого уже делать соответствующий выбор. Нет смысла изучать сложный инструмент, а затем применять его простейшие функции. И наоборот, если планируется серьезная многолетняя работа, то стоит смотреть сразу в сторону приложений с продвинутым функционалом.
2. Если вы планируете заниматься анализом выживаемости основательно, то, скорее всего, придется научиться работать с разными

статистическими пакетами. Изучение второго пакета стоит начинать сразу: так как работу вы начнете с простого анализа, то и учиться на простом проще. Начинать учить новый пакет сразу на сложном анализе может оказаться затруднительно.

3. Если в вашей организации уже используется какая-то программа для анализа данных, то стоит начать изучение именно с нее. Так вам не потребуется покупать самостоятельно лицензию, и можно получить помощь от коллег.
4. Возможно, придется отталкиваться от стоимости лицензии. Многие компании предлагают усеченные версии своих решений по сниженной стоимости или вообще бесплатно, так называемые «университетские» версии, но, как правило, эти версии имеют ограниченный функционал. В таком случае стоит еще раз обратиться к п. 1 и четко определить, какие именно процедуры планируется вызывать. Как альтернатива всегда есть полностью бесплатное решение на языке R, но оно потребует больше усилий в изучении.

Какими функциями должно обладать ПО для статистического анализа

Прежде чем перейти к выбору ПО для статистического анализа, давайте обозначим функции, которые данное ПО должно выполнять.

- **Подготовка данных.**

Прежде чем приступить к анализу, необходимо подготовить исходные данные к удобному для анализа виду. Процесс подготовки состоит из двух этапов:

1. Этап выгрузки данных из источника (Extract). Исходные данные могут располагаться как в базах данных, так и просто в отдельных файлах. Поэтому ПО должно обладать возможностью интегрироваться с различными типами данных. Хорошая совместимость ПО заметно упростит вашу работу и позволит автоматизировать процессы загрузки данных.
2. Этап преобразования данных (Transform) из формата источника в формат, необходимый для вызова статистических процедур. Как правило, статистические функции и процедуры в ПО требуют фиксированного формата исходных данных, а также хорошего качества данных. Это значит, что ПО должно обладать удобными инструментами для преобразования данных, а также инструментами для «очистки» этих самых данных.

- **Анализ данных.**

ПО должно иметь широкий набор различных методов статистического анализа. Ниже представлен необходимый минимум методов:

- ▲ Анализ таблиц дожития (life table analysis).
- ▲ Оценки Каплана—Майера (Kaplan—Meier analysis).
- ▲ Регрессионная модель пропорциональных рисков Кокса (Cox proportional hazards model).
- ▲ Анализ конкурирующих рисков (competing risk analysis).
- ▲ Анализ субраспределений (cumulative incidence analysis).
- ▲ Ландмарк-анализ (landmark analysis).
- Представление результатов.

Как правило, необходимо не только провести анализ и получить результат, но и представить этот результат в понятной форме. Именно поэтому ПО должно обладать функционалом для визуализации результатов. Чаще всего это графики и таблицы.

Пример ПО для статистического анализа

В качестве примера давайте рассмотрим следующие инструменты: SAS, R, SPSS. Для начала дадим верхнеуровневое описание каждого из инструментов, отметим их плюсы и минусы, а затем сравним их между собой.

SAS

Аналитические решения SAS представлены на рынке с 1976 г. В арсенале SAS большой набор инструментов для обработки и анализа данных. Но нам, в первую очередь, интересны решения SAS в сфере медицинской науки, а именно статистический пакет SAS/STAT Survival Analysis Procedures (<https://support.sas.com/rnd/app/stat/procedures/SurvivalAnalysis.html>). В этот пакет входит необходимый набор процедур для анализа выживаемости:

- ICLIFETEST Procedure — непараметрический анализ выживаемости интервально цензурированных данных.
- ICPHREG Procedure — регрессионная модель пропорциональных рисков для интервально цензурированных данных.
- LIFEREG Procedure — параметрическая модель для событий, время которых может быть нецензурированным, лево-, право- или интервально цензурированным.
- LIFETEST Procedure — непараметрические оценки выживания для метода Каплана—Майера или актуарных таблиц.
- PHREG Procedure — регрессионный анализ по модели пропорциональных рисков Кокса.
- SURVEYPHREG Procedure — регрессионный анализ, основанный на модели пропорциональных рисков Кокса для исследований со сложным дизайном.

Также SAS удобно использовать для манипуляций с данными. Поддержка SQL (язык обращения к базам данных) запросов, а также собственные языки SAS Base и SAS Macro позволяют придать данным необходимый вид, очистить данные от некорректных значений и дублей.

SAS совместим с различными базами данных и большинством типов файлов. Среди наиболее популярных: Excel, текстовые файлы (csv, txt), XML, MS SQL, Oracle, MS Access и т. д. Эта совместимость позволяет легко импортировать и экспортировать данные без трудоемких ручных операций.

Плюсы:

1. Широкий набор готовых статистических библиотек и процедур.
2. Наличие удобных инструментов для манипуляции с данными.
3. Совместимость со всеми возможными базами данных и расширениями файлов (может потребоваться отдельная платная лицензия).
4. Обширная официальная документация с большим набором примеров. Развитое сообщество разработчиков и пользователей SAS.

Минусы:

1. Проприетарная лицензия. Высокая стоимость лицензии. Есть возможность использовать университетскую версию, но с ограничениями (https://www.sas.com/en_us/software/university-edition.html).
2. Закрытый исходный код. Невозможность изучить и изменить исходный код программы. Новый функционал может появляться с задержкой.
3. Ограниченный набор для графической визуализации.

IBM SPSS

IBM SPSS Statistics — это полнофункциональная статистическая система, предназначенная для решения исследовательских и бизнес-задач при помощи анализа данных. IBM SPSS Statistics предоставляет функционал для поддержки всех этапов аналитического процесса:

- планирование исследования;
- сбор данных;
- доступ и управление данными;
- всесторонний анализ;
- создание отчетов;
- хранение и распространение результатов.

Интуитивно понятный интерфейс ПО включает в себя все функции управления данными, статистические процедуры и средства создания отчетов для проведения различных анализов:

- актуарные таблицы;

- оценки Каплана—Майера;
- модель Кокса;
- модель Кокса для факторов, зависящих от времени.

Плюсы:

1. Интуитивно понятный интерфейс.
2. Наличие инструментов для манипуляции с данными.
3. Широкий набор готовых статистических библиотек и процедур.

Минусы:

1. Проприетарная лицензия. Высокая стоимость лицензии. Есть возможность использовать университетскую версию, но с ограничениями (<https://www.ibm.com/analytics/academic-statistics-software>).
2. Закрытый исходный код. Невозможность изучить и изменить исходный код программы. Новый функционал может появляться с задержкой.
3. Ограниченный синтаксис и набор функций по сравнению с R и SAS.
4. По сравнению с SAS, SPSS имеет ограничения на объемы хранилища данных и не очень эффективен для обработки действительно больших наборов данных.

R

R — язык программирования для статистической обработки данных и работы с графикой, а также свободная программная среда вычислений с открытым исходным кодом в рамках проекта GNU.

Язык и среда доступны под лицензией GNU GPL; распространяются в виде исходных кодов, а также откомпилированных приложений под ряд операционных систем: дистрибутивы Unix и Linux, Microsoft Windows, Mac OS X.

В R используется интерфейс командной строки, хотя доступны и несколько графических интерфейсов пользователя, например пакет R Commander, RKWard, RStudio, а также средства интеграции в офисные пакеты.

R также совместим с большинством популярных форматов (.xls, .xlsx, .txt, .csv, .json, .xml, .sas7bdat и т. д.).

В репозитории R (CRAN — comprehensive R archive network) более 17 тысяч пакетов, покрывающих различные области от медицины и астрономии до продаж и финансов.

Сформировано большое сообщество, в которое входят множество ученых, биоинформатиков и медицинских исследователей.

Плюсы:

1. Огромный набор статистических библиотек и процедур (необходимо самостоятельно искать и изучать).

2. Большой набор инструментов для манипуляции с данными (необходимо самостоятельно искать и изучать).
3. R — это язык программирования с открытым кодом с лицензией GNU GPL (то есть он бесплатен).
4. Возможность самостоятельно разработать свой пакет или библиотеку или доработать существующий.
5. Большой набор инструментов для визуализации (необходимо самостоятельно искать и изучать).
6. Огромное сообщество пользователей, наличие большого количества статей, книг, форумов.

Минусы:

1. Требуется навыков программирования и достаточно продвинутого знания статистического анализа. Может быть труден для изучения новичкам.
2. Отсутствие готовых «коробочных» продуктов, какие могут предоставить SAS или SPSS. Необходимость самостоятельно искать и изучать возможные решения.

Сравнение SAS, IBM SPSS, R

Если сравнить все 3 инструмента, то получится следующее:

- SAS и SPSS — это готовые решения от больших компаний, и они спроектированы и разработаны как законченный продукт. Работать с ними проще обучиться, они идут сразу с официальной документацией и поддержкой от производителя. Между собой SAS и SPSS отличаются незначительно. В SAS более продвинутая аналитика, но хуже возможности по визуализации. SPSS проще в изучении и имеет более широкий набор инструментов для отображения результатов. Так как для полноценной работы с SAS необходимо изучить специальный язык программирования SAS Base и SAS Macro, он чуть сложнее в освоении.
- R в свою очередь представляет совершенно другой подход. Основным его недостатком является то, что для его освоения необходимы знания программирования и более глубокие знания статистики. Если SAS и SPSS — это готовый «коробочный» продукт, то R — это скорее конструктор, набор библиотек и пакетов. Собирать готовое решение необходимо самому. R требует гораздо больше трудозатрат, но в результате полученный инструмент будет более функциональным, чем SAS и SPSS. Требуется только определить для себя, какой именно уровень необходим.

В табл. 3, 4 представлены для сравнения статистические процедуры в SAS, IBM SPSS, R.

Таблица 3. Описательные процедуры статистических пакетов

Признак	SAS	IBM SPSS	R
Описательные процедуры			
Категориальные переменные	proc freq	frequencies; crosstabs; tables	Table
Количественные переменные	proc univariate; proc means	frequencies/for =not/stat =min max mean median; summarize; examine; descriptives; means	summary; quantile (boxplot; hist)
Дисперсионный анализ в k-группах			
k = 2, t-Test	proc ttest	t-test	t.test
k > 2, ANOVA	proc anova	anova; oneway; summarize; glm	aov, lm, anova
Непараметрические критерии различия в k-группах			
k = 2, тест Mann—Whitney	proc nparlway	npar tests	wilcox.test
K > 2, тест Kruskal—Wallis	proc nparlway	npar tests	kruskal.test
Хи-квадрат	proc freq/chisq	crosstabs / stat = chisq; npar tests	chisq.test
Точный тест Фишера	proc freq/exact	crosstabs / stat = sher; npar tests	fisher.test
Корреляция			
Линейная корреляция	proc corr pearson	correlation	cor(method = “pearson”)
Непараметрические тесты	proc corr kendall spearman	nonpar corr	cor(method = “kendall”, “spearman”)

Таблица 4. Углубленный статистический анализ

Признак	SAS	IBM SPSS	R
Анализ выживаемости			
Оценки Kaplan—Meier	proc lifetest	km	survt
Тест Log-rank	proc lifetest	option /compare in km	survdiff
Регрессионная модель пропорциональных рисков Кокса	proc phreg	Coxreg	coxph
Конкурирующие риски			
Оценки накопленной инцидентности	proc phreg	Существуют макросы	cuminc
Критерий Файна—Грея	proc phreg	Существуют макросы	cuminc

Почему мы используем SAS

В заключение хочется рассказать, почему мы в основном используем SAS.

На наш взгляд, SAS представляет собой наиболее сбалансированное решение. Набор статистических функций более чем достаточен для большинства задач, и при этом использовать их просто и удобно. Нами был реализован набор программ с использованием SAS Base и SAS Macro, которые позволяют частично автоматизировать процесс подготовки и анализа данных. Еще одна немаловажная деталь работы SAS. Все процедуры имеют развернутый выход «по умолчанию», содержащий не только результаты статистических расчетов, но и результаты проверки применимости математической модели, лежащей в основе анализа, для конкретных данных.

Понятия, термины, используемые в событийном анализе «гематологических» данных

Общей целью медицинских исследований является демонстрация клинической пользы воздействия, выражающегося в увеличении продолжительности жизни, улучшении физического состояния пациента, снижении симптоматических нагрузок, улучшении качества жизни.

В русскоязычной научной (не только медицинской) литературе прошлого века часто можно было встретить термин «критерий эффективности». В технической и математической литературе есть близкие по смыслу понятия — целевой параметр, выходная функция. В англоязычной научной литературе и нормативной документации, посвященной клиническим испытаниям, есть термин «конечная точка» — «end point».

В любом клиническом исследовании, будь оно поисковым (exploratory) или доказательным (confirmatory), есть основной целевой признак, на основании измерения его у больных и последующих оценок групповых характеристик делается заключение об эффективности метода лечения, терапевтического протокола, препарата или иного рода медицинского вмешательства. Такой целевой признак либо непосредственно характеризует клинический результат или исход (clinical output), либо претендует на то, что предсказывает его.

Конечные точки

Синонимом понятия «клинический исход» (clinical outcome), наиболее часто используемым в клинических исследованиях для групповых оценок, является «конечная точка».

Формальное определение конечной точки формулируется в словаре Национального института рака США следующим несколько расплывчатым образом:

«В клинических исследованиях — случай или клинический исход, который может быть измерен объективно для решения о том, является ли изучаемое медицинское вмешательство полезным» (<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/endpoint>).

Интересно, что для первичных конечных точек этот же словарь дает несколько иное толкование:

«Первичная конечная точка — это основной результат, который измеряют в конце исследования, чтобы убедиться, работает ли предлагаемый метод лечения» (<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/primary-endpoint>).

Так все-таки конечная точка — это «измерение» или «результат»? Групповая характеристика или индивидуальная?

Как мы увидим далее, понятие конечной точки, чтобы быть рабочим, должно включать в себя определение не только того, что и как мы меряем у больного, но и того, как мы анализируем совокупность измерений на выборке больных и как мы экстраполируем это на всю гипотетическую популяцию больных с данным заболеванием.

Таким образом, если посмотреть на определение конечной точки глазами биостатистика, конечная точка — это цепочка «индивидуальные измерения — оценка на группе — экстраполяция на популяцию».

Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) не приводит прямого определения конечной точки и употребляет его как «меру клинического улучшения» (measure of clinical benefit).

Различают прямые, истинные конечные точки, которые демонстрируют непосредственную клиническую пользу, такие как увеличение продолжительности жизни, улучшение качества жизни и физического статуса, улучшение симптоматики, и суррогатные, косвенно свидетельствующие об улучшении состояния больного и, вероятно, предсказывающие клиническую пользу вмешательства.

Мы не будем подробно описывать все разнообразие признаков и маркеров, применяемых в медицине в качестве конечных точек. Сосредоточимся в основном на событийных конечных точках, английский эквивалент — “time-to-event endpoints” (ТТЕ). В гематологии они используются наиболее часто.

В случае, когда клинический исход характеризуется временем наступления целевого события или группой событий, конечная точка включает в себя:

1. Список событий, составляющих комбинированное событие, например смерть и рецидив.
2. Стартовую дату отсчета временного интервала, например начало протокола.
3. Список цензурирующих событий, например дата последнего контакта и выход из протокола.
4. Список конкурирующих событий; например, для целевого события рецидив — смерть до рецидива.
5. Когорту больных; например, для безрецидивной выживаемости — это больные, достигшие ремиссии.
6. Параметр распределения, использующийся в качестве критерия эффективности. Например, риск или интенсивность (1/мес), медиана времени дожития (месяцы), 3-летняя общая выживаемость (%).

Кроме перечисленных пунктов, используемая событийная конечная точка подразумевает еще статистическую модель, с помощью которой получают и сравниваются оценки этих распределений. Например, сравнение оценок Каплана—Майера, модель Кокса, оценки накопленных интенсивностей (оценки CIF). Особенно это важно, когда преследуется цель поиска прогностических факторов и/или сравнение эффективностей с подгонкой к известным факторам риска.

Абсолютно одинаковых дефиниций и списков событийных конечных точек не существует. Даже списки событийных конечных точек в руководстве FDA [12] или аналогичном Европейском руководстве являются лишь рекомендациями и распространяются в основном на регистрационные клинические испытания препаратов. В научных исследованиях при описании событийных конечных точек в разделе «Методы» рекомендуется описывать используемые событийные конечные точки в соответствии с перечисленными выше пунктами.

Наиболее часто используемые событийные конечные точки в исследованиях по ТГСК (табл. 5)

Вероятность достижения ответа (ВДО). Эта конечная точка используется в исследованиях ранних фаз и на промежуточных этапах анализа и характеризует частоту и/или скорость достижения ответа на терапию. Англоязычные эквиваленты — objective response rate (ORR), complete remission (CR), time to response (TTR). Для анализа этой конечной точки могут использоваться два подхода: частотный и временной. В первом случае анализируется частота получения ответа в контрольной точке. Здесь измеряемый параметр — бинарная переменная: достигнут или нет ответ (ремиссия) данного типа в контрольной точке (например, в конце этапа индукции). Для таких заболеваний, как хрониче-

ский миелоидный лейкоз, когда исследователя интересует не только конечный уровень, но и скорость достижения ответа, ВДО может оцениваться как время до ответа, то есть в этом случае это событийные конечные точки. Целевое событие — достижение ответа. На самом деле такой тип события тоже может считаться суррогатным событием. Регистрация времени этого события (time assessment) — существенным образом зависит от временных регламентов и процедур принятия решения. Так, например, пороговый уровень лабораторного параметра является «договорным» параметром и существенно влияет на решение, когда целевое событие произошло. Стартовая дата для ВДО — начало терапии. Цензурирующее событие — дата последнего контакта. Конкурирующее событие — смерть, наступившая до ремиссии. В зависимости от исследования и типа анализа в набор цензурирующих событий могут быть добавлены другие события, такие как смена протокола (например, переход на вторую линию терапии, трансплантация). Добавление цензурирующих событий может привести к смещению оценок в обе стороны. Это надо учитывать при анализе данных, в особенности если используется консервативный подход.

Общая выживаемость (ОВ). Измеряемый параметр — продолжительность жизни от стартовой даты до даты смерти. В зависимости от исследования стартовая дата может быть: дата диагноза, начала протокола, рандомизации, трансплантации. Целевое событие — смерть. Цензурирующее событие — дата последнего контакта.

Беспрогрессивная выживаемость (БПВ) и бессобытийная выживаемость (БСВ) — обычно в русскоязычной литературе являются синонимами. Англоязычные эквиваленты этих событийных конечных точек — это event-free survival или progression-free survival (EFS or PFS). Измеряемый параметр — продолжительность жизни от стартовой даты до даты первого из целевых событий. Целевые события — это прогрессия/рецидив, смерть. Обычно в набор целевых событий для БСВ добавляют другие неудачи терапии, например констатацию первичной резистентности. В зависимости от исследования стартовой датой может быть дата диагноза, начала лечения, начала протокола, рандомизации, трансплантации. Цензурирующее событие — дата последнего контакта.

Безрецидивная выживаемость (БРВ). Англоязычный эквивалент — relapse-free survival (RFS) или disease-free survival. Измеряемый параметр — продолжительность жизни от стартовой даты до даты первого из целевых событий. Целевые события — это рецидив и смерть. Стартовая дата — дата достижения ремиссии. В этом главное отличие от БПВ. Соответственно когорты, на которой делается оценка, — не вся исследуемая группа, а только пациенты, достигшие ремиссии. Цензу-

рирующее событие — дата последнего контакта с пациентом в продолжающейся ремиссии.

Вероятность развития рецидива (ВРР). В последних публикациях используется более точная формулировка «инцидентность рецидива» (ИР). Англоязычный эквивалент — relapse incidence (RI). Измеряемый параметр — продолжительность жизни от стартовой даты до даты рецидива. Стартовая дата — дата достижения ремиссии. Анализируемая когорта — пациенты, достигшие ремиссии. Цензурирующее событие — дата последнего контакта. Конкурирующее событие — смерть, наступившая до рецидива. В зависимости от исследования и типа анализа в набор цензурирующих событий могут быть добавлены другие события, такие как смена протокола (например, трансплантация) или смерть не от рецидива.

Для численной характеристики используются две оценки CIF (cumulative incidence function), если смерть — конкурирующее событие, или оценки Каплана—Майера, если смерть — цензурирующее событие. Трудность в том, что оценки Каплана—Майера являются оценками гипотетической вероятности рецидива при условии нулевой летальности, и поэтому эти оценки выше наблюдаемой частоты рецидивов. А CIF-оценки не являются оценками вероятности и могут существенно зависеть от летальности. Любой фактор, повышающий летальность, будет снижать частоту рецидивов и будет мнимо благоприятным. Например, сильно токсичные протоколы могут приводить к тому, что частота рецидивов будет низкой, благодаря тому, что больные просто не будут доживать до рецидива. Применять CIF-оценки рецидивов в качестве конечной точки надо с очень большой осторожностью, так как можно сделать ложный вывод об эффективности терапии.

Для исследовательских целей, когда важна характеристика причинно-следственных связей, нужно использовать оценки Каплана—Майера и модели Кокса. Об этом будет более детально сказано дальше по тексту.

Специфические конечные точки в трансплантационных исследованиях (табл. 5)

Посттрансплантационная летальность, не связанная с рецидивами (ПТЛ). Англоязычный эквивалент — non-relapse mortality (NRM). Целевое событие — смерть, не связанная с рецидивом заболевания. Измеряемый параметр — продолжительность жизни от стартовой даты (дата ТГСК) до даты смерти, если она произошла до рецидива. Конкурирующее событие — рецидив.

Вероятность приживления трансплантата (ВПТ). Англоязычный эквивалент — *occurrence of engraftment (OE)*. Измеряемый параметр — продолжительность жизни от даты ТГСК до даты приживления трансплантата. Датировка факта приживления трансплантата зависит от используемых критериев и временного регламента лабораторных измерений. Конкурирующее событие — смерть, не связанная с рецидивом заболевания. Цензурирующее событие — дата последнего контакта или окончание исследования.

Вероятность развития РТПХ. Англоязычный эквивалент — *graft-versus-host disease (GVHD) incidence*. Измеряемый параметр — продолжительность жизни от даты ТГСК до даты регистрации РТПХ. Конкурирующее событие — смерть, не связанная с рецидивом заболевания. В зависимости от целей исследования и интерпретации результатов в конкурирующие события могут включать рецидив, так как пострецидивная терапия может включать иммуноадаптивную/иммуномодулирующую терапию. Цензурирующее событие — дата последнего контакта или окончание исследования.

Истинные и суррогатные события и конечные точки. Вероятность летального исхода для больных с опухолевыми заболеваниями системы крови остается высокой, и поэтому в гематологии эталонной или истинной конечной точкой является общая выживаемость. Все остальные конечные точки являются по определению суррогатными, и исследователь должен аргументировать, почему используемая конечная точка может считаться подходящим суррогатом ОВ.

Принцип суррогатности можно отнести и к событиям. Очевидно, что смерть, травма, резкое изменение клинического статуса — являются истинными событиями, датировка которых не вызывает трудностей и достаточно точна. Такие события, как ремиссия, молекулярный ответ, резистентность, — не являются резкими «скачками» клинического и физиологического статуса, зависят от временного регламента оценки, установленных порогов, формальных рекомендаций и процедур. Суррогатные события используются для удобства анализа и правил принятия терапевтических решений.

Комбинированные событийные конечные точки. Большинство суррогатных событийных конечных точек являются комбинированными, в них целевых событий несколько и время до события — это время до первого из них. Например, в БСВ в список целевых событий входят, кроме смерти, резистентность, прогрессия/рецидив.

Использование комбинированных событийных конечных точек сопряжено с риском получения ошибочных результатов, о чем предупреждают многие специалисты-аналитики. Гетерогенность исследуемых популяций, различное влияние факторов на вероятность событий

из набора целевых событий — потенциальные источники ошибок. Рекомендуется использовать комбинированные событийные конечные точки в сочетании с другими конечными точками, не ограничиваться простыми однофакторными сравнениями и использовать адекватные продвинутые статистические модели.

Положительные и отрицательные события и конечные точки. Очевидно, что события бывают разной природы и разной направленности. Есть события желательные, положительные (*favorable*) такие, как ремиссия, и нежелательные, отрицательные (*unfavorable*), такие как рецидив. Соответственно и конечные точки могут быть разной направленности. Различия в природе событий являются не только этическими, но и влияют на технику регистрации, датировки и соответственно на методику их анализа и ошибки в их оценке.

Есть подспудное желание любого исследователя — если и ошибиться, то в нужную сторону. Для исследователя-оптимиста — это смещение в благоприятную сторону, для исследователя-скептика — это смещение в консервативную сторону.

Датировка суррогатных событий обычно происходит в определенных контрольных точках, поэтому оценки времени события всегда смещены в сторону увеличения ожидаемого времени. Когда временной регламент — визит раз в полгода, год, как в случае контроля ответа в исследованиях по хроническому миелоидному лейкозу, ошибки датировки могут быть существенны.

Поэтому есть разница в оценке и анализе «положительных» и отрицательных событий. Ошибки в измерениях «отрицательных» событий приводят, как правило, к смещению в оптимистическую сторону. При анализе выживаемости — это обычно переоценка выживаемости (недооценка смертности). Ошибки в измерении «положительных» событий приводят к смещению оценок в неблагоприятную сторону. Например, опоздания или пропуск регистрации моментов наступления ремиссии приводят к заниженным оценкам темпов достижения ремиссии.

Если стоять на позиции исследователя-скептика — то выбор в качестве конечных точек положительных событий — это политика более устойчивая, менее рискованная в смысле принятия необоснованных решений.

Конкурирующие риски (события). Конкурирующие риски. Английский эквивалент — *competing risks*. Более адекватным переводом на русский язык было бы «конкурирующие события».

Наиболее простым примером конкурирующих рисков или событий являются летальные исходы от разных причин. Например, конкурирующими являются такие события, как смерть от основного заболевания и смерть от сопутствующих заболеваний или от других причин. Конку-

рирующими события являются потому, что наступление одного события делает невозможным наступление другого.

Есть простой случай симметричных конкурирующих рисков, когда события имеют одну природу и наступление одного события препятствуют наступлению другого и наоборот. Примером таких событий являются смерти от разных причин. Их анализировать и интерпретировать относительно несложно.

Сложнее анализировать и интерпретировать события разной природы и возможно разной направленности — благоприятные и неблагоприятные. Например, конкурирующие события, такие как свадьба и смерть. Эти события разные — одно благоприятное, другое — нет, кроме этого они еще и несимметричны. Свадьба не может произойти после смерти, хотя обратное возможно.

Еще примерами несимметричных конкурирующих событий являются ремиссия и смерть, рецидив и смерть.

Сложности интерпретации результатов анализа конкурирующих событий возникают оттого, что конкурирующее событие само по себе выступает в качестве фактора риска по отношению к другому.

Сложности интерпретации начинаются, когда изучаются факторы, влияющие одновременно на конкурирующие события. Например, факторы, снижающие раннюю посттрансплантационную летальность, могут повышать, если формально смотреть на графики оценок CIF, риск развития РТПХ и рецидивов. И, наоборот, высокодозные режимы кондиционирования могут повышать раннюю летальность и снижать тем самым частоту поздних событий, таких как рецидивы, РТПХ, инфекционные осложнения. То есть при анализе нужно отделять влияние фактора непосредственно на анализируемое событие от влияния на конкурирующие события. Самое большое заблуждение, что инструменты, использующие понятия конкурирующих рисков, такие как накопленная частота (оценки CIF), субфракционные критерии (Файна—Грея), нивелируют влияние конкурирующих рисков. Это не так. Наоборот, анализ с помощью модели Кокса, оценки Каплана—Майера с цензурированием конкурирующих событий являются аппаратом для анализа «чистого» влияния факторов на изучаемые события.

Парадоксально, но разнонаправленные конкурирующие события, такие как ответ/ремиссия и ранняя летальность, в смысле интерпретации проще. Очевидно, что факторы, снижающие раннюю летальность, повышают вероятность ответа.

Анализ конкурирующих рисков (событий) преследует несколько целей.

1. Оценить вероятность (посчитать частоту) и графически представить темпы наступления отдельных событий из группы конкурирующих.

Например, представить графически профиль летальности от разных причин. При этом рекомендуется оценки накопленных частот (CIF) отображать одновременно для всех конкурирующих событий. Для симметричных конкурирующих событий — использовать графики с накоплением (поставленные друг на друга), тогда верхний график будет соответствовать сумме конкурирующих событий. Например, график летальности будет состоять из областей, соответствующих разным причинам смерти и отражать спектр летальности.

2. Проанализировать факторы, влияющие на вероятности возникновения случаев разного типа, являющиеся конкурентными. Здесь надо подчеркнуть, что исследователь может решать 2 разные задачи. 1-я задача — оценить прямое влияние фактора на риск возникновения целевого события в данный момент при условии, что больной дожил до этого момента (*cause specific risk*), без учета того, как фактор связан с риском конкурирующего события. 2-я задача — оценить влияние фактора на частоту целевых событий с учетом конкурирующих событий. Например, применение более жесткого режима кондиционирования может снижать наблюдаемую частоту рецидивов (по крайней мере частично) за счет увеличения риска ранней летальности. Ответы могут существенно отличаться. Специалисты-аналитики рекомендуют обязательно проводить оба типа анализа и учитывать расхождения в оценках при интерпретации результатов.
3. При анализе несимметричных конкурирующих рисков можно одно из событий (обратимое) рассматривать как переменный во времени фактор и поводить анализ по схемам ландмарк-анализа или анализа с помощью модели Кокса с переменными во времени факторами. Так, например, достижение ремиссии, МОБ отрицательности являются очевидно благоприятными факторами для риска летальности, могут и должны анализироваться и интерпретироваться в качестве именно факторов, а не конкурирующих событий для летальности. Примеры анализа конкурирующих событий будут даны в следующих разделах.

Гарантируемое бессмертие. Некорректный анализ по схеме «респондер — нереспондер». Ландмарк-анализ.

В свое время был достаточно популярным сравнительный анализ выживаемости тех, у кого был получен ответ на лечение («респондеры»), и тех, у кого его не было («нереспондеры»). О некорректности такого рода анализа еще в 1983 г. в авторитетном медицинском журнале *Journal of Clinical Oncology* была написана специальная методологическая статья, положения которой обсуждались в последующих статьях на эту важную тему [13—15]. В статьях однозначно показано, что

постфактум разбиение исследуемой группы на ответивших и не ответивших на лечение и сравнение их оценок выживаемости с отсчетом от начала лечения является некорректным методом анализа. Статья Anderson et al. [13] процитирована за эти годы около полутысячи раз, и такой тип анализа почти исчез со страниц авторитетных журналов. Несмотря на это, статьи, в которых этот псевдометод используется, еще появляются, поскольку он очень привлекателен своей кажущейся простотой и наглядностью.

Смысл этого псевдоанализа прост — больные делятся на две подгруппы в зависимости от того, был ли достигнут эффект на лечении или нет; затем строятся и сравниваются кривые выживаемости; продолжительность жизни отсчитывается от начала терапии. Математическое доказательство ошибочности метода приведено в упомянутой статье [13]. Основная некорректность метода в том, что на момент начала терапии, от которого ведется наблюдение за жизненным статусом больного, информация о возможном эффекте у конкретного больного, конечно, отсутствует. Оценки выживаемости в группе отвечающих на лечение очевидно завышены за счет так называемого интервала времени гарантированного бессмертия: пациенты, ответившие на терапию, не могут по определению умереть до ответа, то есть с гарантией доживают до момента ответа.

Для анализа выживаемости или других конечных точек у больных в зависимости от эффективности проведенного им лечения используются более сложные математико-статистические методы анализа: Ландмарк-анализ либо регрессионные модели Кокса с переменными во времени факторами.

Идея ландмарк-анализа (от английского landmark — веха) предложена в этой же статье [13]. Она заключается в том, что точка начала отсчета сдвигается на некоторый интервал времени с тем, чтобы значение исследуемого параметра было уже известно. Скажем, точка ландмарка устанавливается на конец индукционного курса, и группа больных «распадается» на группу больных, достигших ремиссии на индукционном курсе и, соответственно, не достигших ее.

В исследованиях по трансплантации ландмарк-анализом часто называют некоторую эмпирическую модификацию истинного ландмарка [17—19]. Когда надо оценить эффективность ТГСК по сравнению с протоколами без ТГСК, стартовую точку в группе с ТГСК устанавливают естественным образом на дате ТГСК. Чтобы избежать смешения, вызванного «гарантированным бессмертием» в группе ТГСК, стартовую дату в группе терапии (без трансплантации) сдвигают на величину, равную медиане срока выполнения ТГСК. Тем самым стартовые даты в двух группах примерно одинаковы. Данный подход

Таблица 5. Определения и сравнения основных событийных конечных точек, используемых в исследованиях по ТГСК

Конечная точка	Целевые события	Стартовая точка	Конкурирующие события	Цензурирующие события	Когорта	Преимущества	Недостатки
Общая выживаемость	Смерть	Начало протокола	—	Последний контакт	Все включенные больные	Универсальная прямая мера клинического выхода. Просто и точно измеряется	Большой объем выборки. Длительное наблюдение. Включает смерти от других причин
Бессобытийная выживаемость	Смерть, прогрессия/рецидив, недостижение ремиссии / рефрактерность	Начало протокола или начала лечения или рандомизации	—	Последний контактами в сохраняющейся ремиссии	Все включенные больные	Меньшие по сравнению с ОВ выборки, более короткие сроки наблюдения	Не во всех случаях доказана валидность, как суррогатной КТ. Субъективизм в оценках событий. Различия в определениях целевых событий
Безрецидивная выживаемость	Смерть, рецидив	Дата ремиссии	—	Последний контакт	Больные, достигшие ремиссии	Меньшие по сравнению с ОВ выборки, более короткие сроки наблюдения	То же, что и для БСВ. Не включены ранние неблагоприятные события (до ремиссии)
Вероятность достижения ответа/ремиссии	Ответ на терапию	Начало протокола	Смерть до ответа	Последний контактная точка	Все включенные больные	Короткое время наблюдения	Не является прямым измерением клинической пользы
Вероятность развития рецидива	Рецидив	Дата ремиссии	Смерть в ремиссии (до рецидива)	Последний контакт	Больные, достигшие ремиссии	Меньшие по сравнению с ОВ выборки, более короткие сроки наблюдения	Не включены ранние неблагоприятные события (до ремиссии), субъективизм в оценке статуса и причины смерти

Таблица 5 (окончание). Определение и сравнения основных событийных конечных точек, используемых в исследованиях по ТГСК

Конечная точка	Целевые события	Стартовая точка	Конкурирующие события	Цензурирующие события	Когорта	Преимущества	Недостатки
Посттрансплантационная летальность, не связанная с рецидивами	Смерть до рецидива	Дата ТГСК	Рецидив	Последний контакт, контрольная точка	Все больные, перенесшие ТГСК	Специальная цель — оценка рисков самой процедуры	Специальная цель — оценка рисков самой процедуры
Вероятность приживления трансплантата	Приживление трансплантата	Дата ТГСК	Смерть	Последний контакт, контрольная точка	Все больные, перенесшие ТГСК	Зависит от критериев регистрации и временного регламента	Сравнительно небольшие сроки наблюдения
Вероятность развития рецидива (после ТГСК)	Рецидив	Дата ТГСК	Смерть	Последний контакт, контрольная точка	Все больные, перенесшие ТГСК	Интерпретация зависит от используемого анализа	Сравнительно небольшие сроки наблюдения
Вероятность развития РТПХ	РТПХ	Дата ТГСК	Смерть, в некоторых протоколах — рецидив	Последний контакт, контрольная точка	Все больные, перенесшие ТГСК	Зависит от критериев регистрации и временного регламента. Интерпретация зависит от используемого анализа	Сравнительно небольшие сроки наблюдения
Выживаемость без РТПХ и рецидива	РТПХ, рецидив	Дата ТГСК					

приемлем, если нет сильной вариации в сроках выполнения трансплантации.

Трансплантация — это пример более общего типа факторов, переменных во времени, когда фактор не действует до момента времени его включения и действует после.

Простой событийный анализ

Если главной задачей исследования является изучение, описание и оценка характеристик времени до наступления целевого события, то базовый аналитический инструментарий — это событийный анализ. Так как основным изучаемым событием является смерть больного, то более консервативным, ранее используемым названием данного раздела биостатистики было «анализ выживаемости». В настоящее время список исследуемых событий в медицинских исследованиях значительно расширился, и методы анализа выживаемости используются и для других клинически важных событий, таких как ремиссия, рецидив, инфекционный эпизод и другие.

Оценка распределения

Событийный анализ изучает характеристики случайной величины — интервал времени от начала отсчета до момента события. Почему интервал времени до события не совсем обычная случайная величина. Проблема в том, что к моменту анализа в распоряжении исследователя имеется не вся информация, не у всех больных целевые события уже произошли к моменту анализа. То есть для части событий неизвестно точное время, когда они произошли, для части больных из выборки имеется информация только о моменте времени, когда они еще **не произошли**. Так, например, в исследовании, где конечной точкой является выживаемость, к концу исследования часть больных еще жива и в оценку выживаемости должны входить данные этих пациентов. Такие неполные данные называются цензурированными. Для изучаемого события событием цензурирования может быть момент анализа, последний контакт с больным, последнее лабораторное исследование и другие. Важно при анализе обязательно оговорить эти цензурирующие события.

Для описания распределения по данным исследования (эмпирическим данным) рассчитывают оценки параметров распределения, такие как: среднее время, медиана, проценти́ли функции распределения. Здесь следует иметь в виду, что все характеристики распределения, рассчитанные по конечной выборке, являются сами по себе случайными величинами — приблизительными оценками истинных, гипотети-

ческих значений. Обычно любая статистическая программа для любой оценки рассчитывает ее точность — 95% доверительный интервал, который подразумевает, что с 95% вероятностью истинное значение находится внутри этого интервала.

Распределения временной случайной величины описываются следующими гипотетическими функциями:

1. Функция плотности вероятности: $f(t)$. Вероятность, что событие произойдет в малый интервал времени $(t + \Delta t)$, деленная на интервал времен Δt , около этого времени.
2. Накопленная функция распределения интервалов времени до события $F(t)$, отображающая вероятность того, что событие произойдет до момента времени t , например, вероятность, что рецидив произойдет до контрольной точки t .
3. Функция выживаемости $S(t)$, вероятность, что событие не произойдет до момента t , то есть вероятность дожить до момента t , если событие — смерть.
4. Функция риска (или функция интенсивности) $h(t)$ (hazard function) — вероятность, что случай произойдет в интервале $(t + \Delta t)$ около t , деленная на интервал времен Δt , если оно до этого не произошло (умереть в t , при условии, что дожил до t).

Рис. 1. иллюстрирует эти характеристики. На них для примера представлены характеристики распределения Вейбулла с параметром масштаба = 1,3 и параметром формы = 0,8.

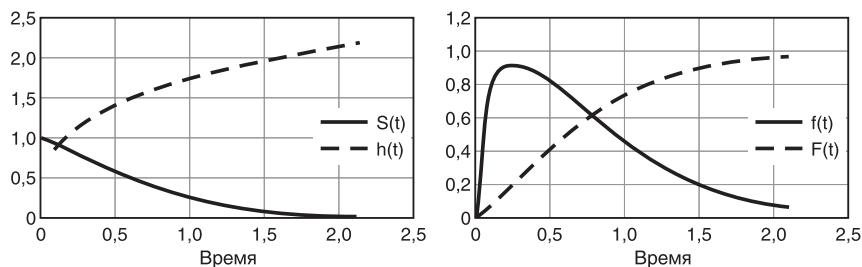


Рисунок 1. Графическое представление характеристик распределения случайного времени до события: выживаемость $S(t)$, функция риска $h(t)$, плотность распределения $f(t)$, накопленная функция распределения $F(t)$. По горизонтальной оси отложено время, по вертикальной — значения функций $S(t)$, $h(t)$, $f(t)$, $F(t)$.

С помощью статистических программ, в зависимости от цели анализа, рассчитываются и представляются графически эмпирические оценки этих гипотетических функций. Чем больше выборка, чем более правильнее она отобрана, тем ближе оценка к гипотетической функции, описывающей всю популяцию анализируемых больных.

Если вид распределения случайного времени известен, то задачей анализа является оценка параметров распределения (например, среднее и дисперсия), то есть осуществляется подгонка распределения под стандартные параметрические распределения: экспоненциальное, Вейбулла, логнормальное и др.

В практике клинических исследований наиболее часто применяются непараметрические оценки распределения: оценки функции выживаемости Каплана—Майера. Это аппроксимация гипотетической функции распределения кусочно-постоянной функцией: набор значений эмпирической функции в точках, соответствующих значениям времени событий больных из выборки.

Здесь еще раз следует подчеркнуть, что оценки Каплана—Майера — это не описание данных по продолжительности жизни конкретной группы больных, а характеристика выживаемости, лишь приближенная к истинной гипотетической характеристике, которая получилось бы при неограниченном увеличении выборки из генеральной совокупности больных.

При графическом отображении оценок Каплана—Майера все статистические программы предлагают опцию отображать доверительный интервал — либо в виде цветной полосы, либо в виде вертикальных интервалов («усы») в нескольких контрольных временных точках.

Следует подчеркнуть важность выбора стартовой точки ($t = 0$) при построении оценок распределения. В некоторых случаях, когда оценивается эффективность терапевтического или хирургического воздействия, она очевидна — это начало терапии, трансплантация, хирургическое вмешательство. Однако в ряде случаев это может быть другое событие, например ремиссия или клиническая манифестация РТПХ. Важно на графиках указывать, от какого момента ведется отсчет. Для оценок безрецидивной выживаемости при проведении ландмарк-анализа стартовая точка задает не только начало отсчета временных интервалов, но и определяет совокупность объектов, по которым ведется расчет. Например, безрецидивная выживаемость — это характеристика когорты больных, доживших до ремиссии, и описывает вероятность сохранения ремиссии. А бессобытийная выживаемость строится на всей группе больных и описывает интервалы времени от начала лечения до любого неблагоприятного события.

Обычно оценки Каплана—Майера строятся на нескольких группах больных, определяемых неким признаком (пол, диагноз, протокол терапии...), и затем сравниваются между собой. Это обычный однофакторный анализ возможной связи между этим признаком и вероятностью изучаемого события или конечной точкой. Для сравнения используются разные тесты.

Общепринятым и наиболее употребительным является логранг-тест (Log-Rank) и тест Вилкоксона (Wilcoxon).

Если сравнивать тесты:

- Логранг-тест наиболее мощный для проверки гипотезы о равенстве распределений, когда интенсивность постоянна во времени.
- Логранг-тест более чувствительный, чем тест Вилкоксона для проверки гипотезы о равенстве распределений, если существует разница между группами в поздние сроки наблюдения.
- Тест Вилкоксона более чувствительный, чем логранг-тест, если существует разница между группами в ранние сроки наблюдения.

Приведем пример оценки общей выживаемости. Обычно статистические пакеты в выходном файле содержат графическое отображение рассчитываемых оценок и таблицы с результатами расчетов.

Сравнение оценок выживаемости

В примере сравниваются оценки общей выживаемости больных после аллогенной трансплантации в зависимости от диагноза, рассчитанные по архивным данным.

Кроме графического вывода оценок выживаемости, программы анализа выдают результаты анализа в виде таблиц. См., например табл. 6 (урезанный выход процедуры LIFETEST пакета SAS).

Таблица 6. Расчетные значения тестов: логранг и Вилкоксона

Тест	Значение Хи-квадрат	Степени свободы	P
Логранг	9,3342	2	0,0094
Вилкоксона	9,4298	2	0,0090

На графике (рис. 2) видно, что выживаемость больных острыми лейкозами (ОЛ) и МДС приблизительно одинакова (5-летняя — около 45%). В группе больных апластической анемией (АА) за время наблюдения летальных исходов нет и поэтому оценки ОВ различаются сильно (рассчитанное по тесту логранг $P = 0,0094$).

Регрессионная модель пропорциональных рисков Кокса — зависимость распределения от параметров (бинарных, численных)

Модель Кокса используется для анализа связи между изучаемыми факторами и временем до изучаемого события (например, смерти, прогрессии, рецидива). В простом однофакторном событийном анали-

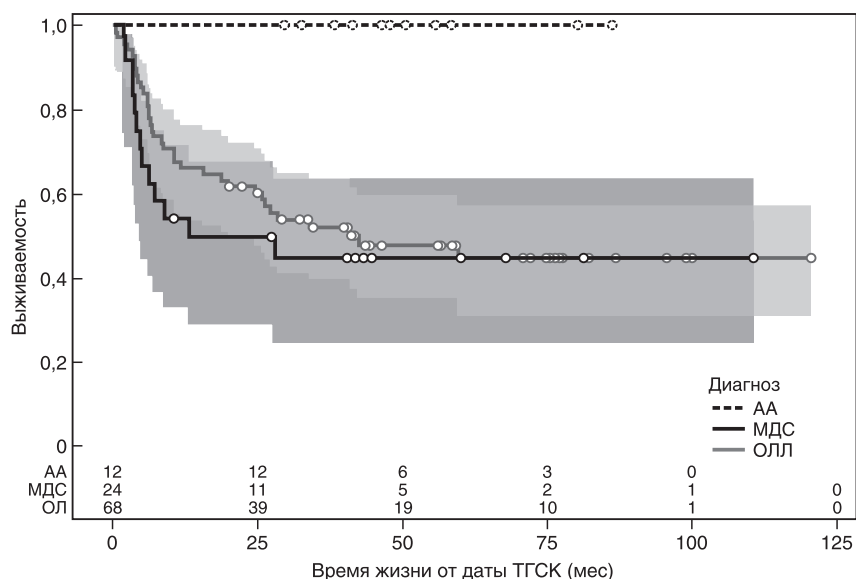


Рисунок 2. Общая выживаемость больных после алло-ТГСК в зависимости от диагноза. По вертикальной оси отложено значение оценок Каплана—Майера в группах больных, по горизонтальной — время жизни от даты ТГСК в месяцах. Три ряда чисел внизу графика — число больных, остающихся под наблюдением в данный момент времени.

зе главной целью является проверка гипотезы об одинаковости оценок распределений интервалов времен до события в группах больных, определяемых одним фактором. Модель Кокса — это по определению многофакторная модель, в которой анализируется связь распределения целевого события с несколькими факторами. Совокупные результаты, полученные в ходе однофакторных расчетов, не обязательно совпадают с результатами многофакторного анализа и могут кардинально отличаться.

Регрессионная модель может анализировать как дискретные, категориальные факторы, такие как пол или диагноз, так и числовые (непрерывные), такие как возраст или количество бластных клеток. Кроме этого, в анализ могут включать факторы, изменяющиеся от времени, могут включать взаимодействие факторов, делать отбор наиболее значимых факторов (пошаговая селекция признаков). На выходе процедур — не только результат о значимости факторов, но и численные оценки степени связи: оценки относительных рисков, которые имеют большое интерпретационное значение. Модель дает на выходе набор коэффициентов регрессии, которые могут быть использованы для

оценки влияния каждого отдельного фактора после подгонки, коррекции влияния остальных факторов.

Для понимания сути модели достаточно посмотреть на ее простое формульное представление:

$$h(t) = h_0(t) \exp(a_1 \cdot x_1 + a_2 \cdot x_2 + \dots),$$

где

$h(t)$ — функция риска (hazard) в момент t ;

$h_0(t)$ — общая функция риска;

a_1, a_2 — весовые коэффициенты (регрессии);

x_1, x_2 — значения факторов.

Формула объясняет суть метода. В ходе вычисления по всей выборке непараметрически с помощью оценок Каплана—Майера вычисляется общее распределение, а затем оцениваются весовые регрессионные коэффициенты, определяющие влияния отдельных факторов.

Здесь важно понять, что в основе базового метода лежат следующие предположения:

1. Пропорциональность рисков, то есть суммарный риск, — это произведение рисков, обусловленных отдельными факторами.
2. Вклады отдельных рисков постоянны во времени.

В обобщениях модели Кокса есть возможность оценивать риски, зависящие от времени, например скачкообразные, такие как трансплантация.

Пример. На модельных данных оцениваем вклады факторов в риск летальности (то есть общую выживаемость)

Таблица 7. Выход процедуры расчетов по модели Кокса для оценки вкладов факторов в риск летальности

Всего наблюдений 63			
Число использованных 62			
Число случаев и цензурирующих событий			
Всего	Случаи	Цензуриро- ванные	% цензури- рованных
62	29	33	53,23
Различные тесты для оценки значимости всей модели			
Тест	Хи-квадат	Степени сво- боды	Р
Отношение правдопо- добия	6,7758	4	0,1482
Ранговый	7,8955	4	0,0955
Вальда	7,2732	4	0,1221

Таблица 7 (окончание). Выход процедуры расчетов по модели Кокса для оценки вкладов факторов в риск летальности

Оценки регрессионных коэффициентов, их ошибок					
Параметр	Значение параметра	Оценка коэфф. модели	Стандартная ошибка	P	Относительный риск
Стадия	> 1 ремиссия	0,47421	0,44678	0,289	1,607
Режим кондиционирования	миелоаблативный	−1,3499	0,59791	0,024	0,259
Режим кондиционирования	пониженной интенсивности	−0,88057	0,59349	0,138	0,415
Источник трансплантата	неродственный	−0,10414	0,46123	0,821	0,901

Общий вывод по результатам анализа заключается в том, что вся модель является формально незначимой, но один из факторов — использование миелоаблативных режимов кондиционирования — все-таки значим ($P = 0,0240$) и является благоприятным фактором ($HR = 0,259$).

Сложности событийного анализа с применением модели Кокса.

- Исследование должно быть достаточно длительным, чтобы набрать побольше событий для достижения статистической значимости результатов.

Но

- Исследование **не** должно быть слишком длительным, чтобы интенсивность (риск) не сильно изменился, чтобы не вступили в игру другие факторы, чтобы за счет летальности не изменилась по составу исследуемая когорта.

Имеющиеся программы статистического анализа (SAS, R, SPSS и др.) создают ложное ощущение аналитического «всемогущества». Как правило, пользователи не читают предупреждения об ограниченности методов, реализованных в процедурах. Во многих процедурах профессиональных пакетов есть опции проверок условий адекватности используемых математических моделей, таких как нормальность, линейность, пропорциональности рисков и тому подобное. Однако пользователи часто не имеют математического образования и адекватность моделей тестировать не умеют.

Приведем некоторые примеры трудностей при проведении очень модного сейчас раздела событийного анализа — анализа конкурирующих рисков.

При анализе с использованием модели Кокса важно не только соответствие требованиям модели о пропорциональности рисков и неизменности во времени воздействия факторов. Очень важным условием

является то, что значение признаков должно быть известно в стартовой точке. Некорректно включение в модель фактора, значение которого будет известно в будущем.

Конкурирующие риски — наиболее интригующая тема в событийном анализе

Honoré, Lleras-Muney в статье, посвященной анализу динамики онкологической смертности в США, написали, что в 1971 г. президент Никсон объявил войну с «онкологической смертностью» [20]. Через 30 лет многие заговорили о том, что эта война проиграна. Стандартизованная по возрасту смертность от рака в 2000 г. была в точности такая же, как и в начале 1970-х. В то же время стандартизованная по возрасту смертность от сердечно-сосудистых заболеваний снизилась значительно. Далее на основе математических выкладок авторы приходят к выводу, что снижение «сердечно-сосудистой смертности» частично объясняет отсутствие прогресса в снижении смертности от рака. В США общая годовичная онкологическая смертность осталась на уровне 200 на 100 тыс. человек в течение 30 лет, а смертность от сердечно-сосудистых заболеваний снизилась с примерно 600 тыс. до 300 тыс. человек в год. Таким образом, два раза больше людей просто дожили до рака, не умерев от сердечно-сосудистых заболеваний, пополнив когорту «онкологической смертности».

Это пример результата конкуренции событий — смертей от разных причин.

Как это произошло с анализом выживаемости, который стал событийным, анализ конкурирующих рисков стал использоваться для изучения других событий, кроме смерти от разных причин. В ТГСК есть много событий, находящихся в сложных отношениях друг с другом. Кроме летальных исходов от разных причин, есть такие конкурирующие события, как неприживление трансплантата, РТПХ, инфекционные осложнения, рецидивы и др.

В отличие от причин смерти для нелетальных событий, за редким исключением, «конкуренцию» составляет только смерть. Хотя для смерти нелетальные события не составляют «конкуренции». Несимметричность конкуренции надо иметь в виду при интерпретации результатов анализа конкурирующих рисков.

Есть два подхода к статическому описанию и анализу конкурирующих рисков. В особенности к анализу зависимости характеристик выживаемости или функций риска от различных факторов.

Классический метод — это построение оценок функции риска событий одного типа в зависимости от целевого фактора. Например, при ана-

лизе риска рецидива от типа донора. При этом конкурирующее событие трактуется как цензурирующее. Например, при оценке вероятности рецидива смерть до рецидива трактуется как цензурирующее событие.

В классической модели Кокса, которая именно анализирует зависимость риска развития целевого события от изучаемых факторов, конкурирующее событие — это цензурирующее событие.

В ряде работ было замечено, что оценки Каплана—Майера дают завышенные оценки вероятности анализируемых событий, если конкурирующие события принимаются как цензурирующие. Это очевидно, если смерть является конкурирующим событием для рецидива, то, трактуя смерть как цензурирование, мы получаем гипотетическую вероятность рецидива в условиях бессмертия, то есть отсутствия конкуренции с летальным событием.

Для оценок вероятности событий, анализируемых в условиях наличия конкурирующего события, были «придуманы» CIF-оценки: кумулятивные функции интенсивности (cumulative intensity function), иногда их называют «функцией накопленной частоты». По смыслу это субраспределения (subdistribution), так как если сложить CIF-оценки конкурирующих событий, получится оценка Каплана—Майера любого события из списка конкурирующих. Например, если сложить CIF-оценки вероятности смерти от разных причин, то получится оценка Каплана—Майера общей летальности. На рис. 6 изображены поставленные друг на друга графики CIF-оценок вероятности летального исхода больных после трансплантации ГСК от причин, не связанных с рецидивом и связанных с ним.

Для сравнения CIF-оценок в разных группах больных (при разном значении анализируемого фактора) используют критерий Файна—Грея (иногда пишут сокращенно «тест Грея»), аналог логранг-критерия, обобщенного для субраспределений.

В чем проблема использования подхода субраспределений. Когда критерий Файна—Грея используется для описания зависимости вероятности целевого события от некоего фактора, причинно-следственная связь фактора и события может искажаться «паразитным» влиянием фактора на конкурирующий риск. Например, использование интенсивных токсичных индукционных режимов может повышать раннюю летальность и тем самым снижать частоту последующих рецидивов.

Почти во всех современных публикациях, посвященных проблеме конкурирующих рисков, авторы советуют проводить, как минимум, одновременно анализ с использованием модели Кокса и модели Файна—Грея. Некоторые специалисты более категоричны. Например, известный статистик, автор нескольких книг по статистике, профессор

Пенсильванского университета Р. Allison так и назвал раздел своего блога: «Для причинно-следственного анализа конкурирующих рисков не используйте метод субраспределений Файна—Грея» [21].

Пример. На наших тестовых данных проведем анализ зависимости вероятности рецидива от группы риска. Сначала получим оценки Каплана—Майера вероятности рецидива, при этом смерть от любых причин, кроме рецидива, будем считать цензурирующим событием.

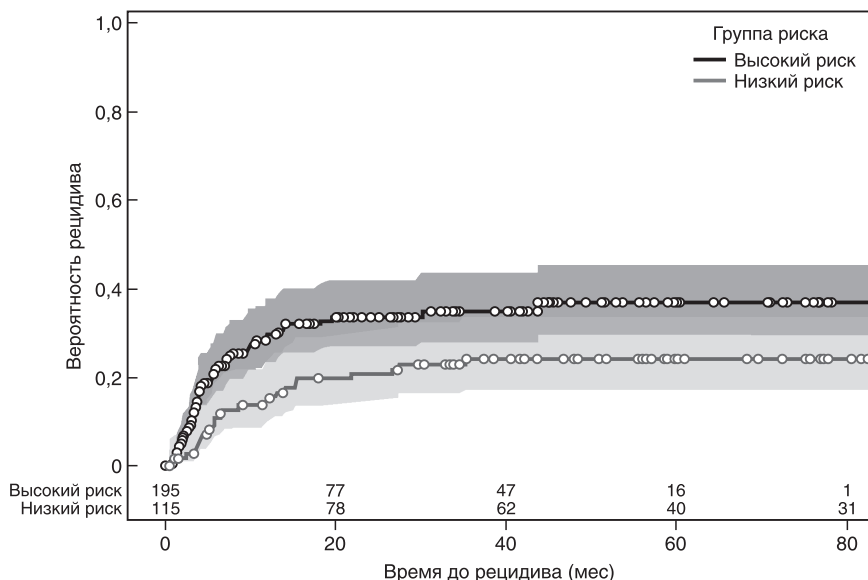


Рисунок 3. Оценки Каплана—Майера вероятности рецидива (смерть—цензурирующее событие) в группах риска.

Разница в оценках Каплана—Майера существенная (5-летняя вероятность 40% против 24%) и значимая ($P_{\text{логранг}} = 0,017$).

Затем посчитаем CIF-оценки рецидива в двух группах.

Реальные частоты в группах отличаются незначительно (5-летняя частота 30% против 22%) и незначимо ($P_{\text{Грей}} = 0,092$). Почему?

Затем посчитаем CIF-оценки летального исхода, не связанного с рецидивом, в двух группах.

Здесь мы видим, что летальность в группе высокого риска значительно превосходит летальность в группе низкого риска.

Реальные частоты смертей в группах отличаются значительно (5-летняя частота 37% против 14%) и сильно значимо ($P_{\text{Грей}} = 0,0001$). Почему?

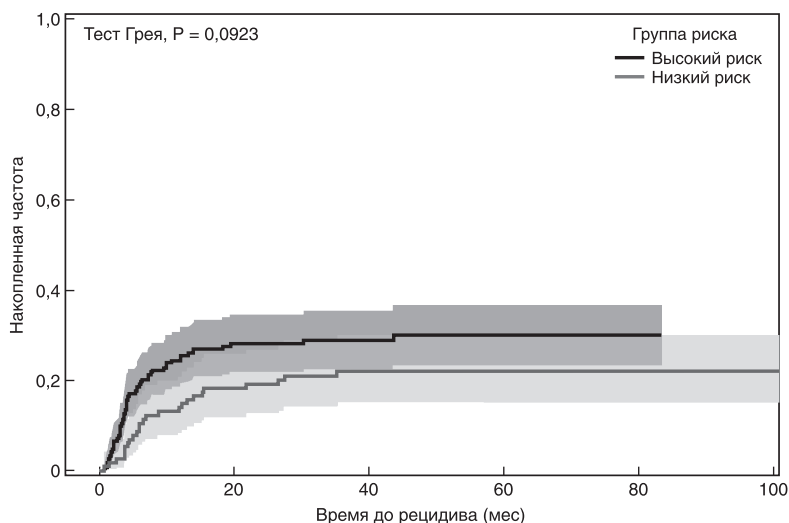


Рисунок 4. CIF-оценки частоты рецидива (смерть — конкурирующее событие) в группах риска.

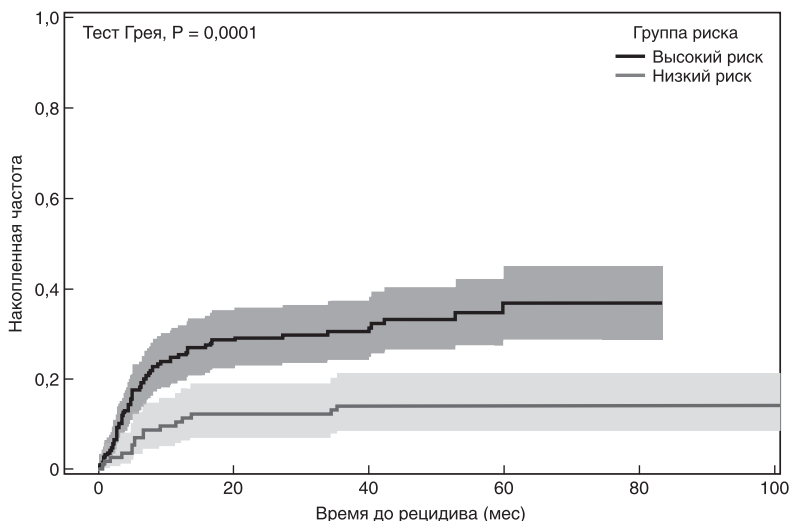


Рисунок 5. Оценки CIF летальности (рецидив — конкурирующее событие) в группах риска.

Когда построим графики CIF в стопку, то есть один над другим, станет понятна разница (рис. 6). Наблюдаемая частота развития рецидивов в группе высокого риска относительно невысокая, потому что в этой группе высокая летальность. Многие пациенты просто не дожи-

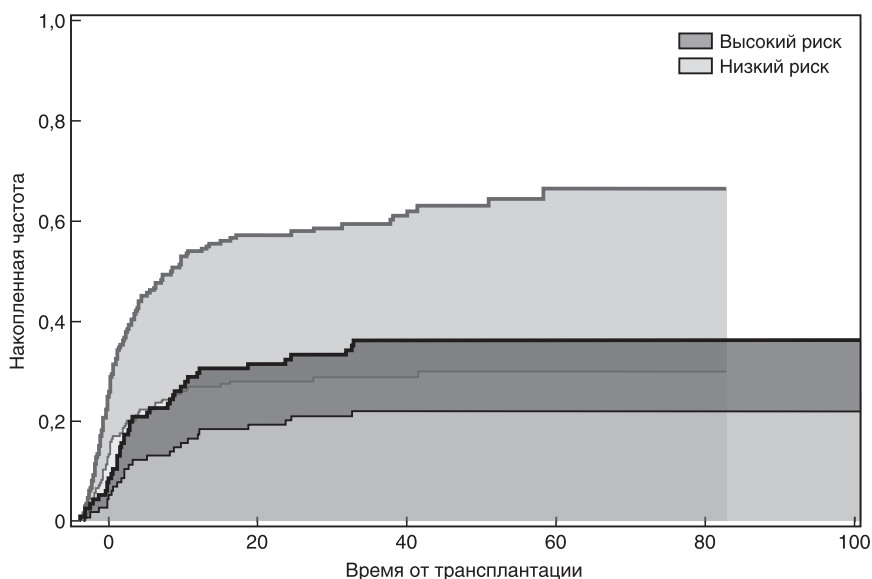


Рисунок 6. Стопка CIF-оценок рецидива и летальности в группах риска. Розовым цветом изображены CIF рецидива и летальности в группе высокого риска, поставленные друг на друг. Синим цветом изображены CIF рецидива и летальности в группе низкого риска, поставленные друг на друга.

вают до рецидива, хотя гипотетическая условная вероятность рецидива высокая. В группе низкого риска летальность относительно невысока и поэтому наблюдаемая частота рецидивов близка к гипотетической вероятности рецидива в условиях отсутствия летальности. Простыми словами, в группе низкого риска большинство пациентов доживают до рецидивов.

Метчинг в событийном анализе

Для сравнения параметров выживаемости в группах, например, на разных протоколах терапии, когда проведение проспективного рандомизированного исследования невозможно, применяют анализ по типу кейс-контроль или с помощью метчинга (от английского *matching* — согласование, соответствие).

Целью метчинг-анализа является компенсация влияния сторонних факторов на вероятную ассоциацию изучаемого фактора с целевой переменной. Например, в одном исследовании нашего центра стоял вопрос — является ли беременность дополнительным существенным фактором риска для выживаемости.

Пример. Для оценки возможных эффектов беременности на результаты терапии молодых женщин, больных острым лимфобластным лейкозом, и нивелирования возможного влияния других важных факторов (пол, возраст, группа риска, иммунофенотип опухолевых клеток) был проведен метчинг-анализ. Такого рода анализ возможно выполнять, когда группа сравнения достаточно велика и для каждого субъекта из группы интереса можно подобрать и поставить в соответствие похожего субъекта из группы сравнения. В ходе этого анализа подбирались пары женщин «беременная—небеременная» с идентичными или близкими значениями базовых факторов риска. При этом сравниваемые группы не только сбалансированы по факторам риска, но и при проведении анализа можно учитывать индикатор связи в парах, что существенно повышает мощность статистического вывода.

В архиве данных проектов «ОЛЛ-2009» и «ОЛЛ-2016» имелась информация в электронной базе данных о 560 пациентах (мужчинах и женщинах). С помощью специальной процедуры метчирования статистического пакета SAS (`proc psmatch`) для каждой беременной пациентки из группы сравнения была подобрана пара — небеременная женщина, близкая по следующим признакам: возраст, иммунофенотип опухолевых клеток и группа риска. В результате процедуры метчинга был создан набор пар «случай—контроль», для этого набора был проведен анализ выживаемости с помощью модели Кокса, в котором связь «случай—контроль» входила в регрессионную модель в качестве случайного фактора. Результат анализа показал незначимую разницу в оценках выживаемости. На рис. 7 приведена оценка ОВ в группах беременных и небеременных женщин детородного возраста после метчирования по возрасту, иммунологическому варианту ОЛЛ и группе риска. Оценки ОВ практически не отличаются ($P = 0,63$).

Анализ повторяющихся событий

Практически любое событие, кроме летального исхода, может повториться. Если достаточно высока вероятность наблюдения нескольких событий, то исследователя может интересовать не только распределение времени до первого события, но и интенсивность наступления следующих.

В исследовании инфекционных осложнений у больных МДС стоял вопрос о сравнении частот инфекционных осложнений на разных протоколах терапии. Сначала были получены оценки вероятности первого инфекционного эпизода (рис. 8).

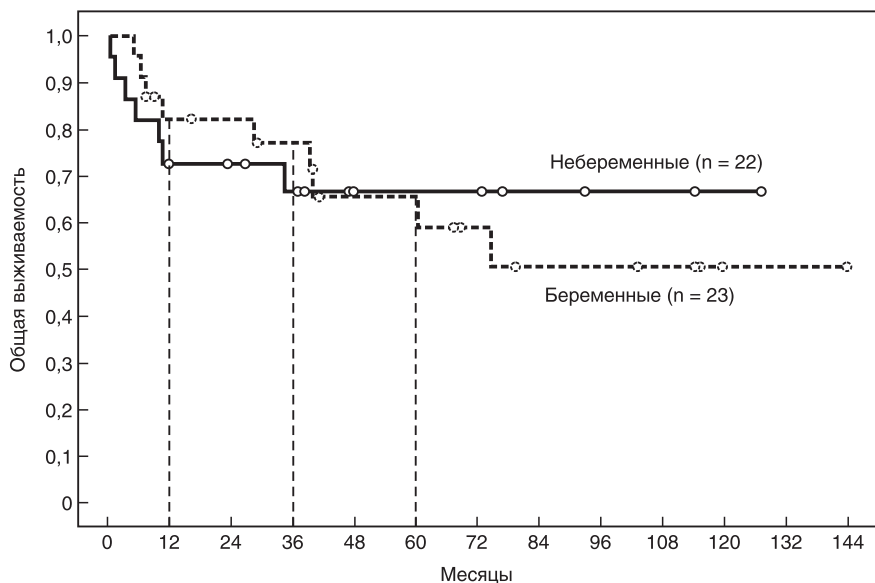


Рисунок 7. Общая выживаемость метчируемых групп молодых женщин, беременных и небеременных, больных ОЛЛ.

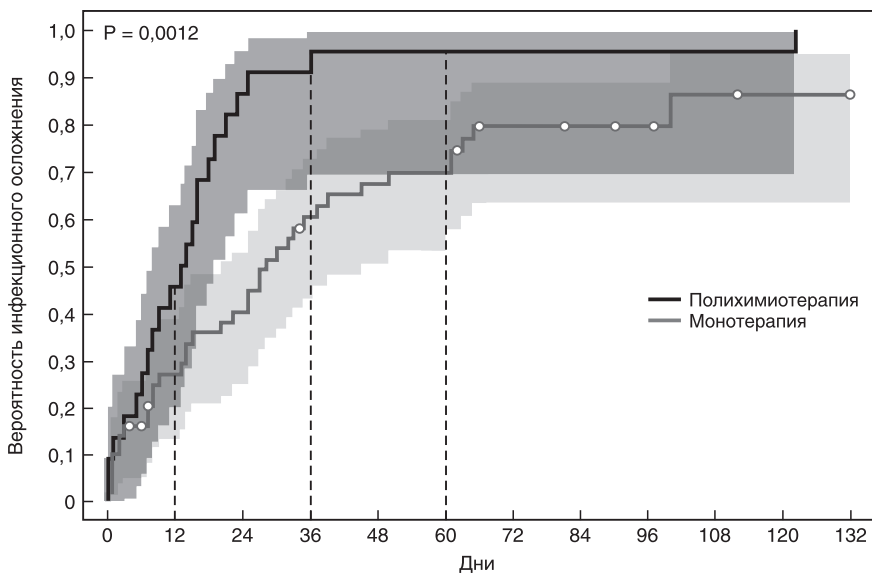


Рисунок 8. Оценки Каплана—Майера вероятности первого инфекционного осложнения больных МДС на разных протоколах терапии.

Медиана времени до развития первого эпизода на программе АЗА–ИДА–АРА–Ц (тип протокола лечения триплет — 3 интенсивных курса с перерывами) — 13,5 дня, на монотерапии азацитидином — 28 дней. Вероятность развития первого инфекционного эпизода к 60-му дню от начала терапии составляет 95% на полихимиотерапии, 70% — на монотерапии.

Так как инфекционные эпизоды могут быть кратными, то, кроме этого, были получены оценки средней накопленной инцидентности (частоты). Эта оценка показывает, сколько в среднем наступает изучаемых событий на 1 больного к данному дню терапии.

На рис. 9 приведены оценки средней интенсивности инфекционных эпизодов в группах. На графике видно, что происходит примерно 1,9 случая инфекционных эпизодов на человека к 120-му дню терапии на обоих протоколах, к 200-му дню терапии — 2 случая на человека на монотерапии, 3 случая на человека на полихимиотерапии и к 300-му дню терапии — 4 случая на человека на полихимиотерапии ($P = 0,28$).

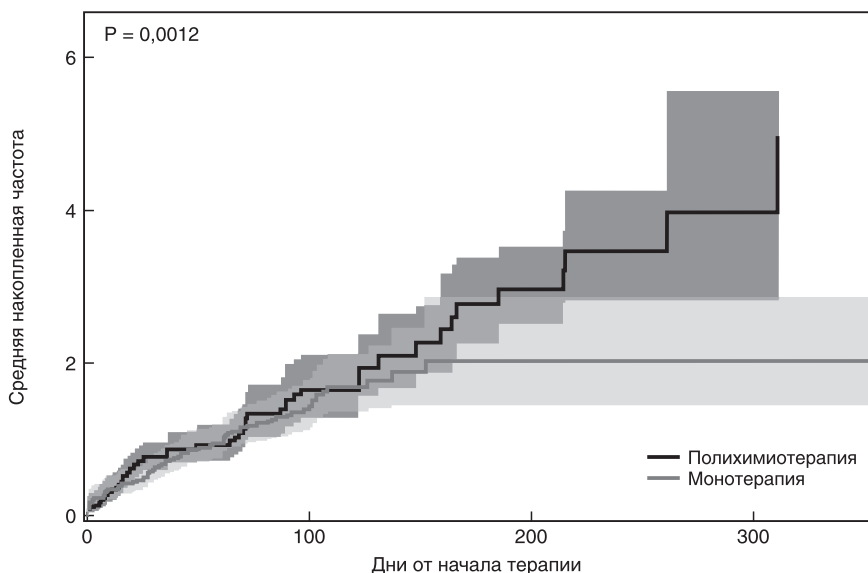


Рисунок 9. Оценки средней накопленной частоты повторных инфекционных эпизодов больных МДС на разных протоколах терапии.

Заключение и обсуждение

В представленной главе мы попробовали описать методические особенности подготовки данных к анализу и сложные аспекты анализа данных исследований в области гематологии и ТГСК. Те разделы, которые не вошли в перечень затронутых тем, являются достаточно общими для клинических исследований в других областях и достаточно хорошо представлены в учебных пособиях по статистике. Основная тема этой главы — это анализ событий. Эта тема наиболее трудна в понимании, интерпретации результатов клинических исследований.

Исследования в области ТГСК характерны не только тем, что важные параметры, характеризующие состояние пациента, меняются со временем, но и тем, что состав изучаемой когорты, группы больных меняется со временем. Мы имеем дело с гетерогенностью когорты не только одномоментной, но и временной. Это делает анализ данных сложным, и поэтому нужно понимание, что можно описать и анализировать простым статистическим инструментарием, а для чего нужен углубленный профессиональный анализ. Неумелое использование сложных программ анализа может привести не только к пропуску важных фактов, искажению оценок, но и к ошибочному обнаружению несуществующих феноменов. В этой области наиболее частым объектом исследования являются всякого рода события: ремиссия, рецидив, инфекционные осложнения, неприживление трансплантата, РТПХ, смерть и другие. Эти события сложно между собой взаимодействуют, находятся в сложной причинно-следственной связи, конкурируют друг с другом. При анализе таких данных нужно все это учитывать, правильно «готовить» данные, формировать выборки исследуемых, правильно формулировать гипотезы и ставить вопросы профессионалам-аналитикам.

Литература

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.
2. Lee ET, Wang J. Statistical methods for survival data analysis. 4th edition. New York: Wiley; 2013. 512 p.
3. Электронный учебник по статистике. М.: StatSoft. URL: www.statsoft.ru/home/textbook/default.htm.
4. Allison PD. Survival analysis using SAS: A practical guide. 2nd edition. Cary (NC): SAS Press; 2010. 324 p.
5. Мастицкий С. Э., Шитиков В. К. Статистический анализ и визуализация данных с помощью R. М.: ДМК Пресс, 2015. 496 с.
6. Cantor AB. SAS survival analysis techniques for medical research. 2nd edition. Cary (NC): SAS Institute Inc.; 2003. 248 p.

7. Iacobelli S. Suggestions on the use of statistical methodologies in studies of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48:S1—S37.
8. Куликов С. М., Савченко В. Г., Маслова Е. Р. и др. Клинические экспериментальные исследования в гематологии: планирование, управление данными, представление результатов. *Терапевтический архив* 1996; 7: 65—72.
9. Куликов С. М., Паровичникова Е. Н., Савченко В. Г. Анализ выживаемости или событийный анализ: типовые ошибки ретроспективного метода. *Клиническая онкогематология* 2010; 3(2):176—183.
10. Guilhot J, Guilhot F, Baccarani M et al. Definitions, methodological and statistical issues for phase 3 clinical trials in chronic myeloid leukemia: a proposal by the European LeukemiaNet. *Blood* 2012; 119(25):5963—5971.
11. SAS® 9.4 — Today and tomorrow. Cary (NC): SAS Institute Inc.; 2020. URL: <https://support.sas.com/software/94/>.
12. Guidance for industry. Clinical trial endpoints for the approval of cancer drugs and biologics. White Oak (MD): FDA; 2018. URL: www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/clinical-trial-endpoints-approval-cancer-drugs-and-biologics.
13. Anderson JR, Cain KC, Gelber RD. Analysis of survival by tumor response. *J Clin Oncol* 1983; 1:710—719.
14. Anderson JR, Cain KC, Gelber RD. Analysis of survival by tumor response and other comparisons of time-to-event by outcome variables. *J Clin Oncol* 2008; 26(24):3913—3915.
15. Andersen PK, Geskus RB, de Witte T, Putter H. Competing risks in epidemiology: possibilities and pitfalls. *Int J Epidemiol* 2012; 41(3):861—870. DOI: 10.1093/ije/dyr213.
16. Dafni U. Landmark analysis at the 25-year landmark point. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2011; 4(3):363—71.
17. Simon R, Makuch RW. A non-parametric graphical representation of the relationship between survival and the occurrence of an event: Application to responder versus non-responder bias. *Stat Med* 1984; 3:35—44.
18. Samuels S. Time-dependent variables and the Simon & Makuch method. STATA; 2013 Oct 23. URL: www.stata.com/statalist/archive/2013-10/msg00809.html.
19. Snapinn S, Jiang Q, Iglewicz B. Statistical practice illustrating the impact of a time-varying covariate with an extended Kaplan—Meier estimator. *Am Stat* 2005; 59:301—307.
20. Honoré BE, Lleras-Muney A. Bounds in competing risks models and the war on cancer. *Econometrica* 2006; 74(6):1675—1698.
21. Allison P. For causal analysis of competing risks, don't use Fine & Gray's subdistribution method. *Ardmore (PA): Statistical Horizons*; 2018 Mar 24. URL: statisticalhorizons.com/for-causal-analysis-of-competing-risks.

**Отдельные клинические
аспекты трансплантации
аллогенных гемопоэтических
стволовых клеток**

Глава 32.

Особенности интенсивной терапии после трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток

Введение

Множественные осложнения трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) могут приводить к развитию острых органных дисфункций и критических состояний, для лечения которых может потребоваться перевод в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Частота госпитализаций в ОРИТ при выполнении алло-ТГСК варьирует от 10% до 57% в зависимости от трансплантационных центров [1, 2]. В России частота госпитализации взрослых больных в ОРИТ составляет 26,8% на всех сроках выполнения алло-ТГСК [3]. Основной проблемой интенсивной терапии жизнеугрожающих осложнений алло-ТГСК является высокая летальность в ОРИТ и неблагоприятный отдаленный прогноз. Однако своевременное начало интенсивной терапии у потенциально курабельных больных может улучшить результаты их лечения [4].

Критические синдромы при поступлении в отделение реанимации и интенсивной терапии у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Осложнения, возникающие у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ГСК), являются следствием эффектов цитостатических препаратов, длительной иммуносупрессии и иммуноопосредованных эффектов донорских клеток, таких как реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [5]. Иммунологические особенности реципиентов алло-ГСК с критическими состояниями отличают их от остальных больных в ОРИТ [6].

Основными причинами перевода в ОРИТ являются сепсис и септический шок, острая дыхательная недостаточность (ОДН), неврологические нарушения (табл. 1).

Таблица 1. Причины перевода в ОРИТ реципиентов алло-ГСК

Критический синдром	Причина
Острая дыхательная недостаточность	Пневмония
	Отек легких, гидростатический (в т. ч. кардиогенный)
	Отек легких, некардиогенный, в том числе ОРДС, острый трансфузионный легочный синдром, синдром «прижизления» и др.
	Нарушение проходимости дыхательных путей (мукозиты, инфекции мягких тканей головы и шеи и др.)
	РТПХ с поражением легких (в т. ч. пневмоторакс, гиперкапния)
Гипотония, шоковые состояния	Диффузное альвеолярное кровоизлияние, синдром идиопатической пневмонии
	Сепсис, септический шок
	Гиповолемия: дегидратация (энтеропатия, перераспределение жидкости, полиурия, надпочечниковая недостаточность и др.), кровотечение (ЖКК, геморрагический цистит и др.)
	Кардиологические нарушения: нарушения ритма и проводимости сердца, сердечная недостаточность, гидроперикард
	Тромбоэмболия легочной артерии
Нарушение сознания и другие неврологические нарушения	Судороги
	Септическая энцефалопатия
	Инфекция центральной нервной системы
	ОНМК (интракраниальные кровоизлияния, ишемический инсульт, тромбоз венозных синусов и др.)
	Лекарственная токсичность

Таблица 1 (окончание). Причины перевода в ОРИТ реципиентов алло-ГСК

Критический синдром	Причина
Острая печеночная недостаточность	Синдром синусоидальной обструкции печени
	РТПХ с поражением печени
	Лекарственная токсичность
	Вирусные гепатиты
	Бактериальная и грибковая инфекция (абсцессы, септические отсевы), сепсис
Острое повреждение почек	Лекарственная токсичность
	Инфекция, сепсис
	Гиповолемия (энтеропатия, рвота, диарея)
	Тромботическая микроангиопатия
	Синдром синусоидальной обструкции печени
	Пострентальная обструкция мочевыводящих путей (геморрагический цистит, инфекция)
Полиорганная недостаточность	Любые причины и их совокупность
ЖКК — желудочно-кишечное кровотечение; ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения; ОРДС — острый респираторный дистресс-синдром.	

Структура критических состояний у реципиентов алло-ГСК, характер их течения и потребность в лечении в ОРИТ меняются в зависимости от этапов трансплантации. Медиана времени от выполнения первой алло-ТГСК до первой госпитализации в ОРИТ составляет +100 дней [7].

Критические синдромы периода кондиционирования и ранней фазы до приживления

Критические синдромы, возникающие у реципиентов алло-ГСК в период кондиционирования и в раннюю фазу иммунной реконституции до приживления, обусловлены токсичностью препаратов, повреждением слизистых оболочек, развитием цитопении, инфекционными осложнениями. Во время проведения кондиционирования и при непосредственной трансфузии стволовых клеток критические состояния возникают редко, всего в 1,7% [7]. В фазу до приживления в ОРИТ переводят до 4—10% всех реципиентов алло-ГСК [8, 9]. Медиана перевода в ОРИТ в период кондиционирования и в фазу до приживления

составляет +6,5 суток [6]. Инфекционные осложнения являются самыми частыми причинами возникновения критических состояний у реципиентов алло-ГСК в этих периодах [10]. На раннюю фазу до приживания приходится до 75% бактериальных инфекций [11], источниками которых могут быть эндогенная флора кишечника, установленный центральный венозный катетер (ЦВК), пневмония [10]. Медиана развития бактериальной инфекции составила +10-е сутки [10]. Вероятность возникновения инфекции кровотока была 31% [12], частота катетерассоциированной инфекции кровотока у реципиентов алло-ГСК достигала 67% [13], а среди госпитализированных в ОРИТ — 50% [10]. Пневмонии при поступлении в ОРИТ регистрировали у 67% больных, инфекции мочевыводящих путей — у 11% [10]. Сепсис явился самой частой причиной развития органических дисфункций, его частота в первые 30 дней после алло-ТГСК составила 43% [11], на момент госпитализации в ОРИТ — 36–49% [14, 15].

Другими жизнеугрожающими состояниями являются ОДН (19–77%) [9, 14, 15], волемическая перегрузка и дегидратация, водно-электролитные нарушения, нарушения ритма и проводимости сердца (7%) [14], неврологические нарушения (19–26%) [14, 15], системные реакции (7%) [16], обусловленные токсичностью химиотерапии и/или иммуносупрессии [5]. Среди реципиентов алло-ГСК, переведенных в ОРИТ в срок до +30-го дня, частота развития шокового состояния составила 33% [9]. Имеются наблюдения проведения успешной алло-ТГСК у больных, находящихся в септическом шоке [17, 18], и у больных с ОДН, которым проводилась искусственная вентиляция легких (ИВЛ) [16, 19].

Критические синдромы, обусловленные трансфузией донорских гемопоэтических стволовых клеток

Тяжелые реакции при трансфузии ГСК развиваются в 10,4% случаев, включая жизнеугрожающие осложнения в 0,3% случаев при трансфузии криоконсервированных лейкоконцентратов [анафилаксия, артериальная гипотензия, ОДН, острое повреждение почек (ОПП), артериальная гипертензия, волемическая перегрузка, аритмии]. Особая роль в возникновении осложнений, обусловленных трансфузиями криоконсервированных ГСК, отводится токсичности диметилсульфоксида [20].

При АВ0-несовместимости донора и реципиента возможны острые гемолитические реакции. По данным российского исследования [21],

частота острого гемолиза составила 2,7% после трансфузии АВ0-несовместимых ГСК. Все случаи гемолиза пришлось на трансфузию костного мозга (КМ), не было случаев гемолиза при трансфузии ГСК крови [21]. В другом исследовании [22] риск гемолиза также был выше при трансфузиях ГСК, полученных из КМ, в сравнении с ГСК крови, что объяснялось большим содержанием эритроцитов в костномозговой взвеси. При большой АВ0-несовместимости причиной гемолиза может являться переливание лейкоконцентрата, содержащего примесь эритроцитов донора, несовместимых с изогемагглютинидами плазмы реципиента; при малой АВ0-несовместимости — переливание лейкоконцентрата, содержащего примесь плазмы с изогемагглютинидами донора, несовместимыми с эритроцитами реципиента [22]. Отсроченные гемолитические реакции, протекающие с массивным гемолизом, описанные при малой АВ0-несовместимости [23, 24], могут быть обусловлены феноменом «пассажирских» В-лимфоцитов, продуцирующих антитела к эритроцитам реципиента [25, 26]. Сообщалось о летальном исходе вследствие гемолиза, приведшего к полиорганной недостаточности в раннем посттрансплантационном периоде [23]. В другом исследовании [27], включившем 158 реципиентов алло-ГСК с АВ0-несовместимостью, не было острых и отсроченных случаев гемолиза в течение 21 дня после алло-ТГСК.

Редким и жизнеугрожающим осложнением трансфузии алло-ГСК, полученных из КМ, может быть острый трансфузионный легочный синдром [28].

Синдром высвобождения цитокинов после трансфузии донорских гемопоэтических стволовых клеток

В соответствии с консенсусом Американского общества трансплантации и клеточной терапии 2018 г. [29], синдром высвобождения цитокинов представляет собой избыточный ответ организма на иммунную терапию, которая выражается в активации или вовлечении в процесс эффекторных клеток и сопровождается рядом симптомов: от лихорадки до артериальной гипотензии, гипоксемии и органной дисфункции (табл. 2). В аспекте алло-ТГСК развитие синдрома высвобождения цитокинов описано преимущественно после трансфузии ГСК крови, полученных от гаплоидентичного донора (гапло-ГСКК) [30]. В сравнении с КМ готовый трансплантат на основе стимулированных ГСК крови содержит большее количество зрелых донорских CD3+ Т-клеток [31]. Возникновение большого количества быстро пролифериру-

ющих аллореактивных Т-клеток после трансплантации может привести к чрезмерному высвобождению провоспалительных цитокинов, возникновению лихорадки, повышению сосудистой проницаемости, артериальной гипотензии, ОПП, ОДН [32, 33]. Синдром высвобождения цитокинов после алло-ТГСК является диагнозом исключения [34]. Он проявлялся лихорадкой у 87% больных после трансфузии гапло-ГСК перед введением высоких доз циклофосфида в посттрансплантационном периоде, который используют для профилактики РТПХ между +3-м и +5-м днями [33, 35]. Циклофосфамид в высоких дозах изолированно подавляет избыточно активированные аллореактивные Т-клетки [35] и нивелирует проявления синдрома высвобождения цитокинов [32]. Сообщалось о 12—17% вероятности развития тяжелых форм синдрома высвобождения цитокинов [32, 33, 36]. Среди 25 реципиентов гапло-ГСК с тяжелыми формами синдрома у 13 развилась энцефалопатия, у 12 потребовалось проведение гемодиализа, у 11 — ИВЛ, 6 — умерли [32]. Большинство больных с тяжелыми формами синдрома высвобождения цитокинов и значимым повышением концентрации интерлейкина-6 ответили на терапию тоцилизумабом [32, 33].

Таблица 2. Критерии Американского общества трансплантации и клеточной терапии и степени тяжести синдрома высвобождения цитокинов [29]

Симптомы СВИ	1-я степень	2-я степень	3-я степень	4-я степень
Лихорадка	Температура тела $\geq 38^{\circ}\text{C}$	Температура тела $\geq 38^{\circ}\text{C}$	Температура тела $\geq 38^{\circ}\text{C}$	Температура тела $\geq 38^{\circ}\text{C}$
Артериальная гипотензия	Нет	Не требует применения вазопрессорных препаратов	Требует применения вазопрессорного препарата $\pm$ вазопрессин	Требует применения нескольких вазопрессорных препаратов
Гипоксемия	Нет	Требует применения кислорода через носовые канюли с низким потоком	Требует применения кислорода через носовые канюли с большим потоком, через лицевую маску, через невозвратную маску, через маску Вентури	Требует применения положительного давления в дыхательных путях (CPAP, BiPAP, интубации трахеи и ИВЛ)

BiPAP (bi-level positive airway pressure) — режим ИВЛ с двухуровневым положительным давлением; CPAP (constant positive airway pressure) — режим ИВЛ с постоянным положительным давлением.

Критические синдромы ранней фазы после приживления

В посттрансплантационном периоде *после приживления* частота госпитализации в ОРИТ с +30-го по +100-й день составляет 5,2—8,9% от всех реципиентов алло-ТГСК [4, 9]. Более половины больных в первые 100 дней алло-ТГСК поступают в ОРИТ в период с +30-го дня по +100-й день. Самыми частыми причинами перевода в ОРИТ в эти сроки являются ОДН (61%), септический шок (12%), нарушения сознания (9%), аритмии (5%), кровотечения (7%), включая ЖКК (3%) [8]. В *раннюю фазу после приживления* на развитие критических состояний и летальность, связанную с трансплантацией, наряду с инфекцией большое влияние оказывают осложнения, обусловленные аллоиммунной реакцией и повреждением эндотелия [5]. К ним относят острую РТПХ (оРТПХ) и синдромы эндотелиального повреждения: синдром синусоидальной обструкции печени, тромботическую микроангиопатию, идиопатический пневмонический синдром, диффузное альвеолярное кровоизлияние, синдром «капиллярной утечки» [37]. РТПХ — одна из главных причин заболеваемости и летальности реципиентов алло-ТГСК. Развитие жизнеугрожающих осложнений вследствие РТПХ может быть опосредовано прямым повреждением тканей, оппортунистическими инфекциями, иммуносупрессией, токсичностью препаратов, применяемых для контроля РТПХ, и любым осложнением, которое может возникнуть у ослабленного больного [38]. Характерными критическими состояниями, возникающими вследствие оРТПХ с поражением желудочно-кишечного тракта, являются дегидратация, гиповолемия, электролитные нарушения [39], гастропарез и динамическая кишечная непроходимость [40], желудочно-кишечное кровотечение (ЖКК) [41], геморрагический шок, сепсис и септический шок вследствие транслокации микрофлоры [42], возможны внутрибрюшная гипертензия, псевдообструкция кишки, перфорация кишки, перитонит [43], при тяжелых формах оРТПХ с поражением кожи — обширный эпидермиолиз [44], при РТПХ с поражением печени — печеночная недостаточность. Среди госпитализированных в ОРИТ реципиентов алло-ТГСК частота оРТПХ любой степени тяжести достигала 41—68% [4, 38], оРТПХ III и IV степени — 33%.

У больных может персистировать цитопения, развиваться гипофункция и несостоятельность трансплантата [45, 46]. Риск тяжелой инфекции в *раннюю фазу периода после приживления* остается высоким, хотя структура возбудителей меняется [47]: увеличивается частота грамотрицательных инфекций, в том числе вызванных резистентными

возбудителями [12], грибковых и вирусных инфекций [47]. Вероятность возникновения инфекции кровотока после приживления трансплантата составила 12% [12], частота катетерассоциированной инфекции кровотока — 21% [13], а среди госпитализированных в ОРИТ — 75% [10]. Частота пневмонии на момент поступления в ОРИТ достигала 100% [10].

Критические синдромы поздней фазы после приживления

Частота госпитализации в ОРИТ в период после +100-го дня составляет 4,3—10,9% от всех реципиентов алло-ГСК [4, 48]. Инфекционные осложнения остаются самой частой причиной развития критических синдромов в эти сроки. По данным исследования [9], среди 32 реципиентов алло-ГСК, госпитализированных в ОРИТ после +100-го дня, ОДН в сочетании с септическим шоком наблюдалась у 47% больных.

Рецидивы и прогрессия заболеваний, которые явились показанием к алло-ТГСК, занимают лидирующее положение среди причин летальности после +100-го дня [49]. Рецидив заболевания после алло-ТГСК на момент госпитализации в ОРИТ наблюдался у 13—21% реципиентов [1, 50]. Редким осложнением является посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание, ассоциированное с инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна—Барр, которое встречалось в 0,5% случаев [51]. Описаны смертельные случаи с развитием вторичного гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза, приведшего к полиорганной недостаточности у реципиентов алло-ГСК [52, 53].

Значимым фактором неблагоприятного прогноза является развитие хронической РТПХ (хрРТПХ) [5]. При стероид-рефрактерных формах хрРТПХ летальность достигает 54%, что в значительной степени связано с инфекцией, кахексией, печеночной дисфункцией [44]. Среди реципиентов алло-ГСК, наблюдавшихся в этот период в ОРИТ, частота хрРТПХ составила 12—28% [4, 50]. Облитерирующий бронхолит РТПХ с поражением легких является опасным поздним легочным осложнением алло-ТГСК, частота его развития составляет 3,5%. При развитии облитерирующего бронхолита 5-летняя ОВ больных, перенесших алло-ТГСК, составила 13% [54].

Таким образом, наиболее частой причиной развития критических состояний у реципиентов алло-ГСК являются инфекционные осложнения. Сепсис и ОДН могут возникнуть в любое время при проведении и после алло-ТГСК. Возникновение других острых состояний обусловлено уникальными осложнениями алло-ТГСК, которые могут

быть характерны для определенных этапов трансплантации [синдром «приживления трансплантата», тромботическая микроангиопатия, острая печеночная недостаточность (ОПечН) при синдроме синусоидальной обструкции печени, ЖКК при орТПХ с поражением кишечника, гиперкапническая ОДН при хрРТПХ с поражением легких и др.].

Острая дыхательная недостаточность у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

ОДН — частое осложнение, возникающее в перитрансплантационном периоде. Прецизионная диагностика причин возникновения ОДН является «краеугольным камнем» лечения онкогематологических больных [55]. У реципиентов алло-ГСК, помимо инфекционных поражений легких и гидростатического отека легких, ОДН может возникнуть и вследствие других причин, характерных для алло-ТГСК: диффузное альвеолярное кровоизлияние, интерстициальный пневмонит, синдром «приживления трансплантата», облитерирующий бронхиолит, являющийся проявлением РТПХ [56, 57]. В условиях полиэтиологичного поражения легких, отсутствия четких критериев диагностики неинфекционных легочных осложнений, частого эмпирического назначения антимикробных препаратов и глюкокортикоидных гормонов достоверное выявление неинфекционных легочных осложнений затруднено, тем более что большинство из них диагностируется методом исключения. По данным российских исследователей, из 54 госпитализированных в ОРИТ в связи с ОДН выписано 48%, однако отдаленный прогноз у выписанных из ОРИТ больных был в целом неблагоприятный: 8-летняя общая выживаемость (ОВ) среди них составила всего 5,4% [7]. Наиболее прогностически неблагоприятной подгруппой среди больных с ОДН были реципиенты алло-ГСК, у которых поражение легких было вызвано РТПХ. В основе этого осложнения лежат перибронхиоларный фиброз и облитерация мелких дыхательных путей, приводящие к бронхообструктивному нарушению дыхания [58]. Тяжелое течение облитерирующего бронхиолита может сопровождаться синдромом «торакальной утечки воздуха», при котором происходит разрыв перераздутых альвеол, проникновение газа в межальвеолярные пространства и клетчатку внутренних органов, формирование спонтанных пневмомедиастинума, пневмоперикарда, подкожной эмфиземы, пневмоторакса [59, 60]. При интенсивной терапии ОДН, вызванной РТПХ с поражением легких, возможны трудности при проведении ИВЛ, которая

сопровождается высоким риском баротравмы, волюмотравмы, плохо поддающейся контролю гиперкапнией [61]. Возможной вспомогательной опцией при РТПХ легких без эпизодов пневмотораксов и других признаков синдрома «торакальной утечки воздуха» является неинвазивная респираторная поддержка. Неинвазивная вентиляция легких способствует созданию положительного давления в дыхательных путях и улучшает газообмен, даже на амбулаторном этапе приводя к уменьшению признаков гипоксемии и гиперкапнии за счет увеличения бронхиальной проходимости и альвеолярной вентиляции, а также снижает утомляемость дыхательной мускулатуры, что было доказано у пациентов с синдромом обструктивного ночного апноэ сна, вентиляционным типом дыхательной недостаточности при хронической обструктивной болезни легких, бронхиальной астме. Российскими исследователями было продемонстрировано уменьшение бронхообструктивных нарушений и повышение толерантности к физической нагрузке при применении неинвазивной вентиляции легких в комплексном лечении облитерирующего бронхиолита после алло-ТГСК [62].

До 21% реципиентов алло-ГСК нуждались в проведении ИВЛ [63–65], а среди тех, кто находился в ОРИТ, ИВЛ проводили 47–83% больных [64, 65]. В 77% случаев причиной перевода на ИВЛ среди реципиентов ГСК явилась ОДН [66]. Гипоксемическая ОДН в качестве причины перевода на ИВЛ была независимым предиктором 90-дневной летальности [67]. Результаты ИВЛ у реципиентов алло-ГСК были хуже (летальность в ОРИТ 53–84% [65, 68]), чем результаты проведения ИВЛ в общей популяции реанимационных больных. Проведение ИВЛ сопровождалось 12-кратным увеличением летальности в ОРИТ [69]. На результаты ИВЛ влияла длительность ее проведения [70]. Сочетание ИВЛ с полиорганной недостаточностью и РТПХ явилось фактором, ухудшающим результаты лечения [63, 66, 67]. Возраст, источник ГСК, тип донора, режим кондиционирования не влияли на летальность при проведении ИВЛ [66]. Другими опциями респираторной поддержки могут быть высокопоточная оксигенация, неинвазивная вентиляция легких, вено-венозная экстракорпоральная мембранная оксигенация. Последняя редко применяется у реципиентов алло-ГСК из-за высокого риска геморрагических осложнений и неблагоприятного исхода [71].

Таким образом, потребность в инвазивной респираторной поддержке является существенным предиктором летальности у реципиентов алло-ГСК. Основными факторами неблагоприятного исхода при ИВЛ являются гипоксемическая ОДН, длительная ИВЛ, потребность в вазопрессорной терапии, наличие печеночной и почечной дисфункции, ОРТПХ.

Сепсис

Инфекционные осложнения — главная причина заболеваемости и летальности среди реципиентов ГСК, у которых развились угрожающие жизни осложнения [72]. Длительный период агранулоцитоза, нарушение клеточного и гуморального звеньев иммунитета при алло-ТГСК являются ключевыми факторами риска развития бактериальных, грибковых и вирусных инфекций, в то время как широкое применение антибиотиков на всех этапах лечения приводит к селекции микрофлоры, резистентной к антибактериальной терапии [42]. Сепсис у больных, перенесших ТГСК, встречался в 5 раз чаще и сопровождался более неблагоприятным прогнозом, чем у больных без ТГСК (соответственно 7,5% и 1,6%) [73]. Сепсис и полиорганная недостаточность чаще развивались у больных с РТПХ, чем у больных без РТПХ, наиболее частыми органными дисфункциями были ОДН и ОПП [73]. В ретроспективном исследовании [10] оценили частоту инфекционных осложнений у 62 реципиентов ГСК, госпитализированных в ОРИТ. Частота инфекции на момент поступления в ОРИТ среди реципиентов алло-ГСК составила 92%, 97% всех больных к моменту перевода в ОРИТ уже получали антимикробную терапию, 50% реципиентов алло-ГСК поступили в ОРИТ в связи с развитием септического шока. За время нахождения в ОРИТ новая инфекция развилась у 64% реципиентов алло-ГСК, септический шок — у 53% больных. Факторами развития новой инфекции в ОРИТ были длительность пребывания в ОРИТ, сепсис / септический шок при поступлении, наличие уретрального катетера. Гематологический статус, вид трансплантации, режим кондиционирования, наличие РТПХ, синдрома синусоидальной обструкции печени, мукозиты, нейтропения на момент поступления в ОРИТ и иммуносупрессивная терапия не влияли на развитие новой инфекции в ОРИТ. Наиболее частыми инфекциями, возникшими в ОРИТ, были инфекции кровотока (в том числе катетерассоциированная) (36%), вентиляторассоциированная пневмония (25%), инфекция мочевыводящих путей (16%).

По данным российского исследования, большинство больных, которые были переведены в ОРИТ с сепсисом в ранней фазе до приживления, когда имелось нарушение слизистых барьеров после кондиционирования, перенесло алло-ТГСК от неродственных или гаплоидентичных доноров, то есть те виды алло-ТГСК, при которых требуется наиболее интенсивное кондиционирование, влекущее за собой наибольший риск токсичности и транслокации микрофлоры из кишечника [74]. Однако, несмотря на столь раннее развитие сепсиса / септического шока (медиана +7-е сутки), большинство из этих больных были выписаны из

ОРИТ и у них был сравнительно благоприятный отдаленный прогноз (8-летняя ОВ составила 43,8%), в отличие от больных, у которых сепсис развился после приживления трансплантата (8-летняя ОВ менее 22,2%). Это объясняется, во-первых, отсутствием необходимости в дополнительной иммуносупрессии для лечения оРТПХ на этом этапе, во-вторых, меньшей приобретенной лекарственной устойчивостью микроорганизмов [12] и, наконец, несмотря на выраженную аплазию КМ после кондиционирования на момент развития инфекции, перспективой достаточно быстрого восстановления кроветворения [75].

После +30-го дня посттрансплантационного периода состоялось большинство госпитализаций в ОРИТ из-за сепсиса [7]. При анализе причин поступления в ОРИТ в этот период не наблюдалось очевидной зависимости между развитием сепсиса и видом алло-ТГСК или режимом профилактики РТПХ по аналогии с ранней фазой. Факторами, влиявшими на развитие инфекции после приживления, были несостоятельность трансплантата и РТПХ [12]. Более того, в ряде случаев применение антимикробных и противовирусных препаратов оказывало миелотоксический эффект, что усугубляло выраженность цитопении, приводило к развитию вторичной гипофункции трансплантата, нарушало нормальную микрофлору, что способствовало транслокации патогенной микрофлоры из кишечника [42]. Однако, хотя сепсис и септический шок у иммунокомпрометированных больных являются факторами неблагоприятного прогноза [76], среди всех осложнений перитрансплантационного периода сепсис и септический шок, особенно возникшие на ранних сроках после трансплантации, характеризовались наиболее благоприятным прогнозом в сравнении с остальными жизнеугрожающими осложнениями [7].

Таким образом, вопреки тому, что инфекционные осложнения являются важнейшей причиной летальности, связанной с трансплантацией, и развития органной дисфункции после алло-ТГСК, наличие инфекции само по себе, даже осложненной сепсисом и септическим шоком, не всегда имеет прогностическое значение в отношении исходов лечения госпитализированных в ОРИТ больных, большую роль играет выраженность органных дисфункций. Однако больные, у которых сепсис и септический шок развились после алло-ТГСК, выполненной вне ремиссии, и страдающие РТПХ, имеют неблагоприятный прогноз.

Полиорганная недостаточность

Органная дисфункция является частым осложнением алло-ТГСК [77]. В ретроспективном исследовании, в которое были включены 206 реципиентов алло-ГСК, у 16% из них в течение 200 дней после трансфу-

зии алло-ГСК развилась органная недостаточность, среди них у 12% — печеночная, у 6% — почечная недостаточность [77]. На летальность реципиентов алло-ГСК, госпитализированных в ОРИТ, влияет не само по себе злокачественное заболевание, трансплантационные характеристики (режим кондиционирования, тип донора, источник трансплантата), а выраженность дисфункции органов [4, 68, 79]. По данным Orvain et al. [79], дисфункция нескольких органов на момент госпитализации в ОРИТ связана с увеличением внутрибольничной летальности. Период времени от возникновения первой органной дисфункции до перевода в ОРИТ ассоциировался с увеличением внутрибольничной летальности [79]. Развитие полиорганной недостаточности у реципиентов ГСК в ОРИТ приводило к 100-процентной летальности. Неблагоприятными прогностическими факторами были применение ИВЛ, лечение вазопрессорными средствами и алло-ТГСК, а при сочетании всех этих факторов 6-месячная летальность составила 100% [80].

Артериальная гипотензия и/или потребность в вазопрессорных средствах являлись предвестником развития полиорганной недостаточности у реципиентов алло-ГСК [79, 82, 83]. Потребность в вазопрессорных средствах была независимым фактором риска летальности в ОРИТ, внутрибольничной летальности и ухудшала ОВ [81, 84—87]. Введение вазопрессорных средств в течение первых 24 ч поступления в ОРИТ ассоциировалось с увеличением 30-дневной летальности и однолетней летальности [75], применение вазопрессорных средств в десятки раз увеличивало летальность в ОРИТ.

Самыми частыми причинами развития ОПП у больных после алло-ТГСК являются лекарственная токсичность (ингибиторы кальциневрина, антибиотики, цитостатики и проч.) и сепсис, к другим причинам относят гиповолемию в результате рвоты и диареи при РТПХ с поражением кишечника, гепаторенальный синдром при синдроме синусоидальной обструкции печени, тромботическую микроангиопатию и синдром повышенной проницаемости сосудов при эндотелиальных микрососудистых осложнениях, обструкцию мочевыводящих путей при геморрагическом цистите, цитомегаловирусную инфекцию [88, 89]. Частота ОПП в ОРИТ у реципиентов алло-ГСК достигала 65% [89], а летальность увеличивалась с утяжелением ОПП: внутрибольничная летальность при ОПП 1-й степени составляла 47%, при ОПП 3-й степени — 81% [89]. Потребность в гемодиализе была ассоциирована с большей внутрибольничной летальностью [84].

Печеночная дисфункция в ОРИТ у реципиентов алло-ГСК проявлялась чаще всего гипербилирубинемией различной степени выраженности и встречалась в 26% случаев [50, 79]. Учитывая небольшую час-

тоту синдрома синусоидальной обструкции и поражений печени в рамках РТПХ, чаще всего гипербилирубинемия была следствием инфекции, токсичности препаратов и полиорганной недостаточности [84]. Гипербилирубинемия явилась независимым фактором риска внутрибольничной летальности госпитализированных в ОРИТ реципиентов алло-ГСК [82, 91].

Таким образом, краткосрочные исходы лечения реципиентов алло-ГСК с критическими состояниями определяются количеством и тяжестью органных дисфункций.

Прогноз у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при переводе в отделение реанимации и интенсивной терапии

Первые исследования, посвященные анализу результатов лечения жизнеугрожающих осложнений у реципиентов алло-ГСК, были выполнены в 1980-х гг. В госпитализации в ОРИТ тогда нуждались от 33% до 40% больных, летальность в ОРИТ достигала 80%, а при проведении ИВЛ летальность составляла 100% [92—94]. Учитывая неблагоприятный прогноз, в 1990—2000 гг. многими авторами был поднят вопрос о нецелесообразности применения методов жизнеобеспечения, и прежде всего ИВЛ, у реципиентов алло-ГСК [94—96].

В 2006 г. Penne et al. [78] среди включенных в исследование 122 реципиентов алло-ГСК, госпитализированных в ОРИТ, которым проводили ИВЛ, выделили группу нуждавшихся в проведении ИВЛ в период до приживления трансплантата, без РТПХ, которые не получали глюкокортикоиды: внутрибольничная летальность среди них составила 78%. Эта летальность оказалась сопоставима с летальностью при проведении ИВЛ онкологическим больным, но была выше, чем у больных в ОРИТ без онкологии (соответственно 75% и 39%) [97, 98]. Результаты лечения реципиентов алло-ГСК, нуждавшихся в ИВЛ спустя 30 дней после алло-ТГСК, у которых развитие органной недостаточности явилось следствием РТПХ и длительного пребывания в иммунодефицитном состоянии, были значительно хуже. Авторы сделали выводы о целесообразности проведения интенсивной терапии у реципиентов алло-ГСК с угрожающими жизни осложнениями, возникшими в период приживления трансплантата, но не у больных с РТПХ, получивших терапию глюкокортикоидами и нуждающихся в проведении ИВЛ.

С внедрением режимов кондиционирования пониженной интенсивности (RIC — reduced intensity conditioning) [98], более широким

использованием гемопоэтических стволовых клеток крови (ГСКК) в качестве источника трансплантата, совершенствованием сопроводительной терапии, уменьшением вероятности развития оРТПХ уменьшилась и летальность, связанная с лечением реципиентов алло-ГСК [99]. Наряду с этим в последние 25 лет наблюдается уменьшение летальности реанимационных больных как в общих ОРИТ, так и среди онкологических и гематологических больных [100]. В ряде исследований было показано, что результаты лечения реципиентов алло-ГСК, находившихся в критическом состоянии, за последние 20—30 лет улучшились [64, 85, 102]. Lengline et al. сравнили результаты лечения двух исторических когорт реципиентов алло-ГСК ($n = 497$), которые поступили в ОРИТ в периоды с 1997 по 2003 г. и с 2004 по 2011 г.: летальность в ОРИТ уменьшилась с 52% до 30%, внутрибольничная летальность — с 67% до 48% [101]. Подобные результаты позволили сделать вывод, что проведение интенсивной терапии в полном объеме является целесообразным у большинства реципиентов алло-ТГСК [64]. Долгосрочные исходы госпитализированных в ОРИТ реципиентов алло-ГСК оценили Townsend et al. [90]. Пятилетняя ОВ у них ($n = 164$) составила 17%, а 5-летняя ОВ больных, которые были выписаны из ОРИТ ($n = 53$), составила 51% при медиане срока наблюдения 43 мес (8—101 мес) и не отличалась от долгосрочной ОВ реципиентов алло-ГСК, не госпитализированных в ОРИТ.

По данным российского исследования, летальность реципиентов алло-ГСК в ОРИТ после первой госпитализации составила 45,9%, с учетом повторных госпитализаций — 59,8%, 30-дневная и 100-дневная летальность 43,6% и 62,3% соответственно [7]. Прогностически неблагоприятным фактором риска, влиявшим на летальность в ОРИТ, была потребность в проведении ИВЛ и/или вазопрессорной терапии, которая косвенно отражала тяжесть органной дисфункции. Это согласуется с большинством проведенных исследований [69], в которых было показано, что на краткосрочную летальность после перевода в ОРИТ влияли не характеристики, связанные с трансплантацией, а степень тяжести критических состояний. Однако часто при развитии терминальных состояний, даже зная о неблагоприятном прогнозе, некоторых больных перед смертью все равно переводят на ИВЛ, им начинают вазопрессорную терапию, что может приводить к завышению летальности, связанной с использованием этих методов жизнеобеспечения. По результатам ряда исследований показано, что в последние годы проведение ИВЛ и вазопрессорной терапии у онкогематологических больных больше не означает однозначно неблагоприятного исхода [101, 103]. Многие больные преодолевают острый период и успешно отлучаются от аппаратов жизнеобеспечения. Свои

преимущества имеет ранняя трахеостомия [103], ранняя реабилитация и активизация [104]. В российском исследовании процедуры жизнеобеспечения были успешно прекращены в среднем у 20% реципиентов алло-ГСК [7], что хуже в сравнении с больными острыми лейкозами на этапе индукционной химиотерапии, которым проводили ИВЛ (отлучено почти 50%) и вазопрессорная терапия (успешное прекращение у 30%) [105]. Другим прогностически неблагоприятным фактором, влиявшим на летальность в ОРИТ, было поступление в ОРИТ после +30-го дня. Схожие результаты получили Pene et al., по данным которых результаты лечения были лучше у тех, кто поступал в ОРИТ в более ранние сроки до +30-го дня, в то время как увеличение частоты РТПХ и оппортунистических инфекций в поздние сроки ухудшало прогноз [78].

Особый интерес представляет отдаленная ОВ больных, переведенных в ОРИТ. В работе российских исследователей [7] ОВ к моменту окончания наблюдения (более 8 лет) составила 15%, что сопоставимо с результатами других авторов, которые сообщали о 18—20% 5-летней ОВ [64, 85]. Но даже при анализе только выписанных из ОРИТ больных их ОВ (34,6%) была меньше, чем у больных, которые в ОРИТ не поступали (58,3%), что можно объяснить «негативной селекцией» больных группы в ОРИТ. Похожий анализ был выполнен двумя другими группами исследователей, которые показали, что ОВ больных, выписанных из ОРИТ, была примерно на 10% меньше, чем ОВ больных, которые не наблюдались в ОРИТ [64, 85]. Тем не менее ОВ выписанных из ОРИТ больных острыми лейкозами, которым алло-ТГСК выполнена в полной ремиссии после кондиционирования в режиме пониженной интенсивности, была сопоставимой с таковой больных, которым госпитализация в ОРИТ не требовалась, и достигла 70% при сроке наблюдения 2 года [7].

Отдаленные результаты лечения критических состояний, которые развились у больных, перенесших алло-ТГСК, были хуже в сравнении с больными, у которых такие осложнения развились на этапе индукционной химиотерапии лейкозов (5-летняя ОВ 43,2%) [105], что подтверждает мнение об особой тяжести реципиентов алло-ГСК, у которых развиваются жизнеугрожающие осложнения [100].

Улучшение краткосрочных и долгосрочных результатов лечения реципиентов алло-ГСК, переведенных в ОРИТ, произошло не только в силу достижений в гематологии и интенсивной терапии, но во многом благодаря изменению принципов принятия решения о переводе в ОРИТ [38]. Критерии и частота перевода в ОРИТ реципиентов алло-ГСК широко варьируют в различных центрах. В некоторых исследованиях в ОРИТ переводили лишь больных, у которых были шансы

благополучного исхода критических состояний, в частности, реципиентов алло-ГСК с неконтролируемой оРТПХ и рефрактерным течением заболевания не переводили в ОРИТ [83, 102]. В канадском исследовании [82] частота госпитализации в ОРИТ реципиентов ГСК составила всего 8,6%, что объяснялось тем, что в ОРИТ переводили только больных, нуждавшихся в проведении ИВЛ или вазопрессорной терапии и у которых можно было ожидать благоприятный исход лечения. В исследованиях, в которых использовали нестрогие показания к переводу в ОРИТ, частота переводов достигала 35% [64], а состояние больных было менее тяжелым [4].

Во многих работах обсуждается проблема принятия решения о переводе в ОРИТ больных с неблагоприятным прогнозом [9, 50, 107]. Отсутствуют проспективные исследования в этой области, нет общепринятых соглашений о том, как правильнее проводить отбор больных в критическом состоянии, перенесших алло-ТГСК, для перевода в ОРИТ. Изученные прогностические факторы оценивают результаты интенсивной терапии больных, которые уже находились в ОРИТ, и не могут в полной мере применяться для прогнозирования исходов лечения до перевода в ОРИТ. В связи с этим предпринимаются попытки создания прогностических шкал и индексов, разрабатываются рекомендации и консенсусы. В соответствии с одним из консенсусов [107] даны следующие рекомендации:

- Интенсивная терапия должна быть начата у реципиентов алло-ГСК, как только возникает острая органная дисфункция. Тяжесть состояния больных и особенности развития органной дисфункции должны регулярно подвергаться переоценке (уровень доказательства — С, сильная рекомендация).
- ИВЛ не должна применяться или продлеваться у реципиентов алло-ГСК, у которых развивается неконтролируемая рефрактерная оРТПХ и полиорганная недостаточность (уровень доказательства — С, сильная рекомендация).

Однако полиорганная недостаточность и РТПХ сами по себе не должны служить поводом для отказа в госпитализации в ОРИТ. Pichereau et al. [38] утверждают, что первым шагом к предотвращению смертей реципиентов алло-ГСК может стать «широкое открытие дверей ОРИТ» для больных без РТПХ и с контролируемой РТПХ и надлежащая оценка характера течения РТПХ, а другим шагом — избегание преждевременных решений о неоказании или прекращении жизнеобеспечения больных с предоставлением времени для наблюдения за ними в пределах нескольких дней или недель и для переоценки их прогноза.

Влияние предшествующей интенсивной терапии на результаты трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Предшествующие критические состояния и интенсивная терапия не влияли на возможность выполнения алло-ТГСК. При ретроспективном анализе алло-ТГСК [107], выполненных с 2000 по 2016 гг., Sarrate et al. сравнили результаты лечения между реципиентами ГСК, у которых в анамнезе во время проведения химиотерапии была госпитализация в ОРИТ, и реципиентами ГСК, у которых до ТГСК не развивались угрожающие жизни состояния и которые не переводились в ОРИТ. Не выявлено различий в длительности госпитализации после ТГСК, времени восстановления гранулоцитов и тромбоцитов. Однако частота инфекционных осложнений была больше в группе больных, побывавших в ОРИТ.

Таким образом, предшествующее развитие угрожающих жизни осложнений не оказывает негативного влияния на исходы последующей алло-ТГСК, и потому такие перенесенные осложнения не должны рассматриваться как противопоказание к проведению ТГСК [107].

Алгоритм диагностики при развитии жизнеугрожающих осложнений

Для выявления жизнеугрожающих осложнений и критических состояний необходимо регулярное наблюдение за пациентами в блоке трансплантационного отделения. Для объективной динамической оценки состояния больных возможно использование шкал раннего реагирования (MEWS — Modified Early Warning Score, например) и шкал оценки тяжести состояния (SOFA — Sequential Organ Failure Assessment, например).

При развитии жизнеугрожающих осложнений необходима консультация реаниматолога для обеспечения соответствующей квалифицированной помощи. Отсроченная госпитализация в ОРИТ после выявления полиорганной недостаточности приводит к увеличению летальности [108]. Ранняя госпитализация в ОРИТ может улучшить выживаемость после алло-ТГСК, о чем свидетельствует увеличение летальности, наблюдавшееся у больных, поступивших в ОРИТ после предыдущего отказа, и у больных с длительным нарушением функций органов до поступления в ОРИТ [80, 109].

Для консультации реаниматологом в зависимости от неотложности и тяжести состояния больного следует подготовить:

- краткий анамнез с акцентом на перенесенные осложнения;
- анамнез настоящего ухудшения;
- свежие общий анализ крови, биохимический анализ крови, КЩС артериальной крови или центральной смешанной венозной крови;
- информацию о наиболее значимых результатах обследования;
- динамику витальных изменений (сознание, АД, ЧСС, ЧДД, SpO₂, температура);
- подробную информацию о темпе диуреза и водном балансе, включая изменение водного баланса в течение последних 3—5 дней, динамику массы тела, динамику ЦВД;
- информацию о проводимой терапии в течение последних 3—5 дней;
- информацию о уже проведенном лечении настоящего ухудшения, потребовавшего консультации реаниматолога.

Решение о переводе больного в ОРИТ должно приниматься реаниматологом и гематологом совместно с учетом анализа потенциальной обратимости настоящего ухудшения и анализа преимуществ и ограничений для лечения конкретного больного в условиях ОРИТ.

Лечение жизнеугрожающих осложнений

Лечение критических состояний по показаниям проводится в условиях ОРИТ реаниматологами, имеющими опыт работы с гематологическими пациентами, согласно принятым рекомендациям и институциональной практике.

Литература

1. Moreau AS, Seguin A, Lemiale V et al. Survival and prognostic factors of allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients admitted to intensive care unit. *Leuk Lymphoma* 2014; 55(6):1417—1420. DOI: 10.3109/10428194.2013.836602.
2. Naeem N, Eyzaguirre A, Kern JA et al. Outcome of adult umbilical cord blood transplant patients admitted to a medical intensive care unit. *Bone Marrow Transpl* 2006; 38(11):733—738. DOI: 10.1038/SJ.BMT.1705502.
3. Шекина А. Е., Галстян Г. М., Дроков М. Ю. и др. Интенсивная терапия жизнеугрожающих осложнений у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология* 2022; 67(3):308—327. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-3-308-327.
4. Orvain C, Beloncle F, Hamel JF et al. Different impact of the number of organ failures and graft-versus-host disease on the outcome of allogeneic stem cell transplantation recipients requiring intensive care. *Transplantation* 2017; 101(2):437—444. DOI: 10.1097/TP.0000000000001143.

5. Randolph BV, Ciurea SO. What the intensivist needs to know about hematopoietic stem cell transplantation? In: Nates JL, Price KJ (editors). *Oncologic critical care*. Cham (CH): Springer; 2020. P. 1531—1546. DOI: 10.1007/978-3-319-74588-6.
6. Fornwalt RA, Brigham EP, Scott Stephens R. Critical care of hematopoietic stem cell transplant patients. *Crit Care Clin* 2021; 37(1):29—46. DOI: 10.1016/J.CCC.2020.08.002.
7. Щекина А. Е., Галстян Г. М., Дроков М. Ю. и др. Интенсивная терапия жизнеугрожающих осложнений у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология* 2022; 67(3):308—327. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-3-308-327.
8. Bayraktar UD, Shpall EJ, Liu P et al. Hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index predicts inpatient mortality and survival in patients who received allogeneic transplantation admitted to the intensive care unit. *J Clin Oncol* 2013; 31(33):4207—4214. DOI: 10.1200/JCO.2013.50.5867.
9. Díaz-Lagares C, Fox L, García-Roche A et al. Sequential Organ Failure Assessment Score and the need for organ support predict mortality in allogeneic stem cell transplant patients admitted to the intensive care unit. *Transpl Cell Ther* 2021; 27(10):865.e1—865.e7. DOI: 10.1016/J.JTCT.2021.06.026.
10. Barlas T, İnci K, Aygencel G et al. Infections in hematopoietic stem cell transplant patients admitted to hematology intensive care unit: a single-center study. *Hematology* 2021; 26(1):328—339. DOI: 10.1080/16078454.2021.1905355.
11. Осипов Ю. С., Бессмельцев С. С., Салогуб Г. Н. и др. Инфекционные осложнения после гаплоидентичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с опухолями кроветворной и лимфоидной тканей высокого риска: опыт одного центра. *Клиническая онкогематология* 2019; 12(4):406—415. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-4-406-415.
12. Ахмедов М. И., Клясова Г. А., Паровичникова Е. Н. и др. Инфекции кровотока в разные фазы реконституции у больных после первой трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Онкогематология* 2022; 17(1):121—134. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-121-134.
13. McDonald MK, Culos KA, Gatwood KS et al. Defining incidence and risk factors for catheter-associated bloodstream infections in an outpatient adult hematopoietic cell transplantation program. *Biol Blood Marrow Transpl* 2018; 24(10):2081—2087. DOI: 10.1016/J.BBMT.2018.04.031.
14. Borrega GJ, Heger JM, Koehler P et al. Allogeneic stem cell transplant recipients admitted to the intensive care unit during the peri-transplant period have unfavorable outcomes — results of a retrospective analysis from a German university hospital. *Ann Hematol* 2022; 101(2):389—395. DOI: 10.1007/S00277-021-04698-3.
15. Michel CS, Teschner D, Schmidtman I et al. Prognostic factors and outcome of adult allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients admitted to intensive care unit during transplant hospitalization. *Sci Rep* 2019; 9(1):1—7. DOI: 10.1038/s41598-019-56322-0.
16. Hamadah A, McDiarmid SA, Huebsch LB et al. Management of patients transferred to the ICU during the conditioning phase of allogeneic hematopoietic

- stem cell transplantation. *Intensive Care Med* 2009; 35(11):2002—2003. DOI: 10.1007/S00134-009-1583-4.
17. Галстян Г. М., Макарова П. М., Кузьмина Л. А. и др. Успешная трансплантация аллогенного костного мозга у больных с тяжелым грамотрицательным сепсисом и септическим шоком. *Клиническая онкогематология* 2014; 7(2):122—130.
 18. Leprêtre P, Clavier T, Ménard AL et al. Rescue stem cell allograft in intensive care unit patients during septic shock with multi-organ failure. *J Crit Care* 2019; 54:122—124. DOI: 10.1016/J.JCRC.2019.07.002.
 19. Boehm A, Rabitsch W, Locker GJ et al. Successful allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia during respiratory failure and invasive mechanical ventilation. *Wien Klin Wochenschr* 2011; 123(11—12): 354—358. DOI: 10.1007/S00508-011-1590-7.
 20. Madsen BK, Hilscher M, Zetner D et al. Adverse reactions of dimethyl sulfoxide in humans: A systematic review. *F1000Res* 2019; 7:1746. DOI: 10.12688/F1000RESEARCH.16642.2.
 21. Кучер М. А., Эстрина М. А., Бондаренко С. Н. и др. Роль групповой АВ0-несовместимости в развитии осложнений при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова* 2015; 22(1):57—59. DOI: 10.24884/1607-4181-2015-22-1-57-59.
 22. Sauer-Heilborn A, Kadidlo D, McCullough J. Patient care during infusion of hematopoietic progenitor cells. *Transfusion* 2004; 44(6):907—916. DOI: 10.1111/J.1537-2995.2004.03230.X.
 23. Oziel-Taieb S, Faucher-Barbey C, Chabannon C et al. Early and fatal immune haemolysis after so-called ‘minor’ ABO-incompatible peripheral blood stem cell allotransplantation. *Bone Marrow Transpl* 1997; 19(11):1155—1156. DOI: 10.1038/sj.bmt.1700794.
 24. Laurencet FM, Samii K, Bressoud A et al. Massive delayed hemolysis following peripheral blood stem cell transplantation with minor ABO incompatibility. *Hematol Cell Ther* 1997; 39(3):159—162. DOI: 10.1007/S00282-997-0159-4.
 25. Toren A, Dacosta Y, Manny N et al. Passenger B-lymphocyte-induced severe hemolytic disease after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 1996; 87(2):843—844. DOI: 10.1182/BLOOD.V87.2.843.BLOODJOURNAL872843.
 26. Lee HJ, Gulbis A, De Padua Silva L et al. Rituximab for passenger lymphocyte syndrome associated with allogeneic SCT. *Bone Marrow Transpl* 2008; 42(1): 67—69. DOI: 10.1038/bmt.2008.79.
 27. Rowley SD, Liang PS, Ulz L. Transplantation of ABO-incompatible bone marrow and peripheral blood stem cell components. *Bone Marrow Transpl* 2000; 26(7):749—757. DOI: 10.1038/SJ.BMT.1702572.
 28. Urahama N, Tanosaki R, Masahiro K et al. TRALI after the infusion of marrow cells in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Transfusion* 2003; 43(11): 1553—1557. DOI: 10.1046/J.1537-2995.2003.00542.X.
 29. Lee DW, Santomaso BD, Locke FL et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector

- cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25:625—638. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.12.758.
30. Tvedt THA, Vo AK, Bruserud Ø et al. Cytokine release syndrome in the immunotherapy of hematological malignancies: the biology behind and possible clinical consequences. *J Clin Med* 2021; 10(21):5190. DOI: 10.3390/JCM10215190.
 31. Raj K, Pagliuca A, Bradstock K et al. Peripheral blood hematopoietic stem cells for transplantation of hematological diseases from related, haploidentical donors after reduced-intensity conditioning. *Biol Blood Marrow Transpl* 2014; 20(6): 890—895. DOI: 10.1016/J.BBMT.2014.03.003.
 32. Imus PH, Blackford AL, Bettinotti M et al. Severe cytokine release syndrome after haploidentical peripheral blood stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl* 2019; 25(12):2431—2437. DOI: 10.1016/J.BBMT.2019.07.027.
 33. Abboud R, Keller J, Slade M et al. Severe cytokine-release syndrome after T cell-replete peripheral blood haploidentical donor transplantation is associated with poor survival and anti-IL-6 therapy is safe and well tolerated. *Biol Blood Marrow Transpl* 2016; 22(10):1851—60. DOI: 10.1016/J.BBMT.2016.06.010.
 34. McCurdy SR, Muth ST, Tsai HL et al. Early fever after haploidentical bone marrow transplantation correlates with class II HLA-mismatching and myeloablation but not outcomes. *Biol Blood Marrow Transpl* 2018; 24(10):2056—2064. DOI: 10.1016/J.BBMT.2018.06.004.
 35. Sugita J. HLA-haploidentical stem cell transplantation using posttransplant cyclophosphamide. *Int J Hematol* 2019; 110(1):30—38. DOI: 10.1007/S12185-019-02660-8.
 36. Abboud R, Wan F, Mariotti J et al. Cytokine release syndrome after haploidentical hematopoietic cell transplantation: an international multicenter analysis. *Bone Marrow Transpl* 2021; 56(11):2763—2770. DOI: 10.1038/S41409-021-01403-W.
 37. Gavrilaki E, Ho VT, Schwaible W et al. Role of the lectin pathway of complement in hematopoietic stem cell transplantation-associated endothelial injury and thrombotic microangiopathy. *Exp Hematol Oncol* 2021; 10(1):57. DOI: 10.1186/S40164-021-00249-8.
 38. Pichereau C, Lengliné E, Valade S et al. Trajectories of acute graft-versus-host disease and mortality in critically ill allogeneic-hematopoietic stem cell recipients: the Allo-GRRR-OH score. *Bone Marrow Transpl* 2020; 55(10):1966—1974. DOI: 10.1038/S41409-020-0857-X.
 39. Jacobsohn DA, Vogelsang GB. Acute graft versus host disease. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2(1):35. DOI: 10.1186/1750-1172-2-35.
 40. Галстян Г. М., Пашкова М. В., Попова О. Ю. и др. Лечение ботулотоксинном гастропареза у больного после трансплантации аллогенного костного мозга. *Терапевтический архив* 2018; 90(1):60—64. DOI: 10.17116/terarkh201890160-64.
 41. Chirletti P, Caronna R, Arcese W et al. Gastrointestinal emergencies in patients with acute intestinal graft-versus-host disease. *Leuk Lymphoma* 1998; 29(1—2): 129—137. DOI: 10.3109/10428199809058388.
 42. Голощапов О. В., Чухловин А. Б., Бакин Е. А. и др. Трансплантация фекальной микробиоты при реакции «трансплантат против хозяина» у детей и

- взрослых: методы, клинические эффекты, безопасность. *Терапевтический архив* 2020; 92(7):43—54. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000773.
43. Шутов С. А., Данишян К. И., Галстян Г. М. и др. Успешный случай хирургического лечения некроза тощей кишки как осложнения острой РТПХ у пациента в состоянии септического шока при нейтропении. *Гематология и трансфузиология* 2020; 65(S1):247.
 44. Vargas-Díez E, García-Díez A, Marín A et al. Life-threatening graft-vs-host disease. *Clin Dermatol* 2005; 23(3):285—300. DOI: 10.1016/J.CLINDERMATOL.2004.06.005.
 45. Chen J, Wang H, Zhou J et al. Advances in the understanding of poor graft function following allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Ther Adv Hematol* 2020; 11:2040620720948743. DOI: 10.1177/2040620720948743.
 46. Ozdemir ZN, Bozdağ CS. Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Apher Sci* 2018; 57(2):163—167. DOI: 10.1016/J.TRANSCI.2018.04.014.
 47. Wingard JR, Hsu J, Hiemenz JW. Hematopoietic stem cell transplantation: an overview of infection risks and epidemiology. *Infect Dis Clin North Am* 2010; 24(2):257—272. DOI: 10.1016/J.IDC.2010.01.010.
 48. Nakamura M, Fujii N, Shimizu K et al. Long-term outcomes in patients treated in the intensive care unit after hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol* 2018; 108(6):622—629. DOI: 10.1007/S12185-018-2536-X.
 49. Phelan R, Arora M, Chen M. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR US summary slides. 2020. URL: cibmtr.org/ReferenceCenter/SlidesReports/SummarySlides/Pages/index.aspx.
 50. Bayraktar UD, Milton DR, Shpall EJ et al. Prognostic index for critically ill allogeneic transplantation patients. *Biol Blood Marrow Transpl* 2017; 23(6):991—996. DOI: 10.1016/J.BBMT.2017.03.003.
 51. Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2009; 113(20):4992—5001. DOI: 10.1182/BLOOD-2008-09-178046.
 52. Sandler RD, Carter S, Kaur H et al. Haemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) — time to reappraise with modern diagnostic and treatment strategies? *Bone Marrow Transpl* 2019; 55(2):307—316. DOI: 10.1038/s41409-019-0637-7.
 53. Cutini I, Peruzzi B, Caporal R et al. EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in allogeneic transplantation. *Ann Hematol Oncol* 2021; 8(3):1335.
 54. Dudek AZ, Mahaseth H, DeFor TE et al. Bronchiolitis obliterans in chronic graft-versus-host disease: analysis of risk factors and treatment outcomes. *Biol Blood Marrow Transpl* 2003; 9(10):657—666. DOI: 10.1016/S1083-8791(03)00242-8.
 55. Azoulay E, Mokart D, Kouatchet A et al. Acute respiratory failure in immunocompromised adults. *Lancet Respir Med* 2019; 7(2):173. DOI: 10.1016/S2213-2600(18)30345-X.
 56. Шекина А. Е., Галстян Г. М., Дроков М. Ю. Роль интенсивной терапии при проведении трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых

- клеток. Гематология и трансфузиология 2022; 67(2):216—239. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-2-216-239.
57. Haider S, Durairajan N, Soubani AO. Noninfectious pulmonary complications of haematopoietic stem cell transplantation. *Eur Respir Rev* 2020; 29(156):1—18. DOI: 10.1183/16000617.0119-2019.
58. Soubani AO, Uberty JP. Bronchiolitis obliterans following haematopoietic stem cell transplantation. *Eur Respir J* 2007; 29(5):1007—19. DOI: 10.1183/09031936.00052806.
59. Moon MH, Sa YJ, Cho KD et al. Thoracic air-leak syndromes in hematopoietic stem cell transplant recipients with graft-versus-host disease: a possible sign for poor response to treatment and poor prognosis. *J Korean Med Sci* 2010; 25(5):658. DOI: 10.3346/JKMS.2010.25.5.658.
60. Khoshbin AP, Aliannejad R. Case 281: thoracic air leak syndrome in a patient with hematopoietic stem cell transplantation and graft-versus-host disease. *Radiology* 2020; 296(3):710—714. DOI: 10.1148/RADIOL.2020182477.
61. Wohlfarth P, Schellongowski P, Staudinger T et al. A bi-centric experience of extracorporeal carbon dioxide removal (ECCO 2 R) for acute hypercapnic respiratory failure following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Artif Organs* 2021; 45(8):903—910. DOI: 10.1111/AOR.13931.
62. Обухова А. А., Павлова В. А., Марков Н. В. и др. Портативная неинвазивная вентиляция легких при облитерирующем бронхолите после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Cell Ther Transpl* 2021; 10(3):57—59.
63. Gilbert C, Vasu TS, Baram M. Use of mechanical ventilation and renal replacement therapy in critically ill hematopoietic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transpl* 2013; 19(2):321—324. DOI: 10.1016/J.BBMT.2012.09.010.
64. Lueck C, Stadler M, Koencke C et al. Improved short- and long-term outcome of allogeneic stem cell recipients admitted to the intensive care unit: a retrospective longitudinal analysis of 942 patients. *Intensive Care Med* 2018; 44(9):1483—1492. DOI: 10.1007/s00134-018-5347-x.
65. Lindgaard SC, Nielsen J, Lindmark A et al. Prognosis of allogeneic haematopoietic stem cell recipients admitted to the intensive care unit: a retrospective, single-centre study. *Acta Haematol* 2016; 135(2):72—78. DOI: 10.1159/000440937.
66. Solh M, Oommen S, Vogel RI et al. A prognostic index for survival among mechanically ventilated hematopoietic cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transpl* 2012; 18(9):1378—1384. DOI: 10.1016/J.BBMT.2012.02.009.
67. Hamidi M, Gossack-Keenan KL, Ferreyro BL et al. Outcomes of hematopoietic cell transplant recipients requiring invasive mechanical ventilation: a two-centre retrospective cohort study. *Can J Anaesth* 2019; 66(12):1450—1457. DOI: 10.1007/S12630-019-01439-Z.
68. Depuydt P, Kerre T, Noens L et al. Outcome in critically ill patients with allogeneic BM or peripheral haematopoietic SCT: a single-centre experience. *Bone Marrow Transpl* 2011; 46(9):1186—1191. DOI: 10.1038/BMT.2010.255.
69. Saillard C, Darmon M, Bisbal M et al. Critically ill allogeneic HSCT patients in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of prognostic fac-

- tors of mortality. *Bone Marrow Transpl* 2018; 53(10):1233—1241. DOI:10.1038/s41409-018-0181-x.
70. Allareddy V, Roy A, Rampa S et al. Outcomes of stem cell transplant patients with acute respiratory failure requiring mechanical ventilation in the United States. *Bone Marrow Transpl* 2014; 49(10):1278—1286. DOI: 10.1038/BMT.2014.130.
 71. Wohlfarth P, Beutel G, Lebiedz P et al. Characteristics and outcome of patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation treated with extracorporeal membrane oxygenation for acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2017; 45(5):e500—e507. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002293.
 72. Chavan P, Chauhan B, Joshi A et al. Differential diagnosis of thrombocytopenia in hematopoietic stem cell transplant patients. *J Hematol Thrombo Dis* 2014; 2(6):1—5. DOI: 10.4172/2329-8790.1000168.
 73. Taur Y, Jenq RR, Perales MA et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2014; 124(7):1174—1182. DOI: 10.1182/BLOOD-2014-02-554725.
 74. Kumar G, Ahmad S, Taneja A et al. Severe sepsis in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Crit Care Med* 2015; 43(2):411—421. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000714.
 75. Gea-Banacloche J. Risks and epidemiology of infections after hematopoietic stem cell transplantation. In: Ljungman P, Snyderman D, Boeckh M (editors). *Transplant infections*. 4th edition. Cham (CH): Springer; 2016. P. 81—99. DOI: 10.1007/978-3-319-28797-3_6.
 76. van der Heiden PLJ, Arbous MS, van Beers EJ et al. Predictors of short-term and long-term mortality in critically ill patients admitted to the intensive care unit following allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transpl* 2019; 54(3):418—424. DOI: 10.1038/S41409-018-0277-3.
 77. Jamme M, Daviaud F, Charpentier J et al. Time course of septic shock in immunocompromised and nonimmunocompromised patients. *Crit Care Med* 2017; 45(12):2031—2039. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002722.
 78. Hajifathali A, Hamidpour M, Roshandel E et al. Organ failure following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and transplant outcome organ failure. *Acta Med Iran* 2022; 60(3):156—164. DOI: 10.18502/ACTA.V60I3.9003.
 79. Pène F, Aubron C, Azoulay E et al. Outcome of critically ill allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation recipients: a reappraisal of indications for organ failure supports. *J Clin Oncol* 2006; 24(4):643—649. DOI: 10.1200/JCO.2005.03.9073.
 80. Orvain C, Beloncle F, Hamel JF et al. Allogeneic stem cell transplantation recipients requiring intensive care: time is of the essence. *Ann Hematol* 2018; 97(9):1601—1609. DOI: 10.1007/S00277-018-3320-Y.
 81. Huynh TN, Weigt SS, Belperio JA et al. Outcome and prognostic indicators of patients with hematopoietic stem cell transplants admitted to the intensive care unit. *J Transpl* 2009; 2009:1—8. DOI: 10.1155/2009/917294.
 82. Soubani AO, Kseibi E, Bander JJ et al. Outcome and prognostic factors of hematopoietic stem cell transplantation recipients admitted to a medical ICU. *Chest* 2004; 126(5):1604—1611. DOI: 10.1378/CHEST.126.5.1604.

83. Kew AK, Couban S, Patrick W et al. Outcome of hematopoietic stem cell transplant recipients admitted to the intensive care unit. *Biol Blood Marrow Transpl* 2006; 12(3):301—305. DOI: 10.1016/J.BBMT.2005.10.020.
84. Gilli K, Remberger M, Hjelmqvist H et al. Sequential organ failure assessment predicts the outcome of SCT recipients admitted to intensive care unit. *Bone Marrow Transpl* 2010; 45(4):682—688. DOI: 10.1038/BMT.2009.220.
85. Mayer S, Pastores SM, Riedel E et al. Short- and long-term outcomes of adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients admitted to the intensive care unit in the peritransplant period. *Leuk Lymphoma* 2017; 58(2):382—390. DOI: 10.1080/10428194.2016.1195499.
86. Turki AT, Lamm W, Schmitt C et al. Platelet number and graft function predict intensive care survival in allogeneic stem cell transplantation patients. *Ann Hematol* 2019; 98(2):491—500. DOI: 10.1007/S00277-018-3538-8.
87. Boyaci N, Aygencel G, Turkoglu M et al. The intensive care management process in patients with hematopoietic stem cell transplantation and factors affecting their prognosis. *Hematology* 2014; 19(6):338—345. DOI: 10.1179/1607845413Y.0000000130.
88. Смирнов К. А., Добронравов В. А. Острое повреждение почек при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Нефрология* 2014; 18(6): 26—42. DOI: 10.24884/1561-6274-2014-18-6-66-73.
89. Куприенко Н. Б., Смирнова Н. Н. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток и нефропатия. *Нефрология* 2018; 22(1):52—57. DOI: 10.24884/1561-6274-2018-22-1-52-57.
90. Canet E, Lengline E, Zafrani L et al. Acute kidney injury in critically ill allo-HSCT recipients. *Bone Marrow Transpl* 2014; 49(8):1121—1122. DOI: 10.1038/BMT.2014.100.
91. Townsend WM, Holroyd A, Pearce R et al. Improved intensive care unit survival for critically ill allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients following reduced intensity conditioning. *Br J Haematol* 2013; 161(4):578—586. DOI: 10.1111/BJH.12294.
92. Denardo SJ, Oye RK, Bellamy PE. Efficacy of intensive care for bone marrow transplant patients with respiratory failure. *Crit Care Med* 1989; 17(1):4—6. DOI: 10.1097/00003246-198901000-00002.
93. Torrecilla C, Cortés JL, Chamorro C et al. Prognostic assessment of the acute complications of bone marrow transplantation requiring intensive therapy. *Intensive Care Med* 1988; 14(4):393—398. DOI: 10.1007/BF00262895.
94. Crawford SW, Schwartz DA, Petersen FB et al. Mechanical ventilation after marrow transplantation. Risk factors and clinical outcome. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137(3):682—687. DOI: 10.1164/AJRCCM/137.3.682.
95. Rubinfeld GD, Crawford SW. Withdrawing life support from mechanically ventilated recipients of bone marrow transplants: a case for evidence-based guidelines. *Ann Intern Med* 1996; 125(8):625—633. DOI: 10.7326/0003-4819-125-8-199610150-00001.
96. Bach PB, Schrag D, Nierman DM et al. Identification of poor prognostic features among patients requiring mechanical ventilation after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2001; 98(12):3234—3240. DOI: 10.1182/BLOOD.V98.12.3234.

97. Azoulay É, Thiéry G, Chevret S et al. The prognosis of acute respiratory failure in critically ill cancer patients. *Medicine (Baltimore)* 2004; 83(6):360—370. DOI: 10.1097/01.MD.0000145370.63676.FB.
98. Esteban A, Anzueto A, Frutos F et al. Characteristics and outcomes in adult patients receiving mechanical ventilation: a 28-day international study. *JAMA* 2002; 287(3):345—355. DOI: 10.1001/JAMA.287.3.345.
99. Baron F, Storb R. Allogeneic hematopoietic cell transplantation following non-myeloablative conditioning as treatment for hematologic malignancies and inherited blood disorders. *Mol Ther* 2006; 13(1):26—41. DOI: 10.1016/J.YMTHE.2005.09.011.
100. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2010; 363(22):2091—2101. DOI: 10.1056/NEJMoa1004383.
101. Darmon M, Bourmaud A, Georges Q et al. Changes in critically ill cancer patients' short-term outcome over the last decades: results of systematic review with meta-analysis on individual data. *Intensive Care Med* 2019; 45(7):977—87. DOI: 10.1007/S00134-019-05653-7.
102. Lengliné E, Chevret S, Moreau AS et al. Changes in intensive care for allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transpl* 2015; 50(6):840—845. DOI: 10.1038/BMT.2015.55.
103. Mokart D, Pastores SM, Darmon M. Has survival increased in cancer patients admitted to the ICU? Yes. *Intensive Care Med* 2014; 40(10):1570—1572. DOI: 10.1007/S00134-014-3433-2.
104. Tanaka A, Uchiyama A, Kitamura T et al. Association between early tracheostomy and patient outcomes in critically ill patients on mechanical ventilation: a multicenter cohort study. *J Intensive Care* 2022; 10(1):1—10. DOI: 10.1186/S40560-022-00610-X/TABLES/4.
105. Dong Z, Yu B, Sun Y et al. Effects of early rehabilitation therapy on patients with mechanical ventilation. *World J Emerg Med* 2014; 5(1):48. DOI: 10.5847/WJEM.J.ISSN.1920-8642.2014.01.008.
106. Баженов А. В., Галстян Г. М., Паровичникова Е. Н. и др. Роль интенсивной терапии в лечении больных острыми миелоидными лейкозами. *Терапевтический архив* 2019; 91(7):14—24. DOI: 10.26442/00403660.2019.07.000321.
107. Bayraktar UD, Nates JL. Intensive care outcomes in adult hematopoietic stem cell transplantation patients. *World J Clin Oncol* 2016; 7(1):98—105. DOI: 10.5306/WJCO.V7.I1.98.
108. Sarrate E, Jiménez MJ, Morgades M et al. Impact of previous admission to an intensive care unit on stem cell transplantation outcome. *Med Clin* 2020; 155(9):382—387. DOI: 10.1016/J.MEDCLI.2020.01.034.
109. Mokart D, Lambert J, Schnell D et al. Delayed intensive care unit admission is associated with increased mortality in patients with cancer with acute respiratory failure. *Leuk Lymphoma* 2013; 54(8):1724—1729. DOI: 10.3109/10428194.2012.753446.

Глава 33.

Парциальная красноклеточная аплазия после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Введение

Парциальная красноклеточная аплазия (ПККА) после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) — осложнение, которое диагностируется на сроке +2 месяца после алло-ТГСК и характеризуется нормоцитарной анемией с зависимостью от трансфузий эритроцитсодержащих сред, отсутствием ретикулоцитоза в периферической крови, редукцией красного ростка в костном мозге при наличии приживления и функционирования донорского лейкоцитарного и тромбоцитарного ростков кроветворения. ПККА возникает при несовместимости групп крови у донора и реципиента по системе АВ0. Гены, кодирующие углеводные гликозилтрансферазы системы АВ0, расположены на хромосоме 9 (9q34), а гены, кодирующие HLA, — на хромосоме 6 (6p21) и, следовательно, наследуются независимо [1]. Как следствие, HLA-совместимые доноры аллогенных стволовых клеток примерно в 40—50% случаев трансплантаций имеют несовместимость по системе АВ0. ПККА развивается при большой несовместимости по системе АВ0 реципиента и донора после алло-ТГСК в 30% случаев большой несовместимости. Классификация видов несовместимости приведена в табл. 1. Одним из механизмов развития является перекрестная реактивность между антигенами группы крови

донора и антителами реципиента (изогемагглютинины), из-за которой возникает иммунологический конфликт, при котором изогемагглютинины, секретируемые плазматическими клетками реципиента, вырабатываются в большом количестве и тем самым препятствуют созреванию донорских эритроидных предшественников в костном мозге. В 80% случаев ПККА развивается у пациентов с группой крови 0(I) после алло-ТГСК от доноров с группой крови A(II), реже от доноров с группой крови B(III) или AB(IV), это связано с тем, что аффинность антигена A и антитела α выше, чем антигена B и антитела β , а также тем, что плотность антигенов A больше, чем антигенов B [2—5].

Таблица 1. Виды несовместимости в зависимости от группы крови пар донор—реципиент

Несовместимость по системе АВ0	Группа крови	
	Реципиент	Донор
Малая	A, B, AB	0
	AB	A, B
Двунаправленная	A	B
	B	A
Большая	0	A, B, AB
	A, B	AB

Диагностика

Диагноз ПККА устанавливают на сроке +2 месяца после алло-ТГСК, после исключения вирусных инфекций (парвовирус B19, герпесвирусы), рецидива заболевания, лекарственной токсичности, дефицита железа, фолатов, витамина B₁₂.

Критерии диагноза:

- Нормоцитарная анемия с зависимостью от трансфузий эритроцит-содержащих сред.
- Отсутствие ретикулоцитоза в периферической крови (менее 1%).
- Редукция эритроидного ростка или его полное отсутствие при цитологическом исследовании костного мозга (менее 5%).
- 100% донорское кроветворение по молекулярной метке.
- Повышение титров изогемагглютининов в периферической крови более чем в 2 раза от исходного значения.

Профилактика

Существуют единичные работы по профилактике развития ПККА у несовместимых по системе АВ0 пар донора и реципиента. Описывает-

ся несколько методов. Во-первых, истощение изогемагглютининов путем иммуноадсорбции *in vivo*. Для этого во время проведения предтрансплантационного кондиционирования производят трансфузию эритроцитсодержащих сред донорской группы. Несмотря на эффективность, по некоторым публикациям, у этого метода есть нежелательные явления в виде развития внутрисосудистого гемолиза. Еще одним способом профилактики развития ПККА является проведение процедур плазмаферезов в первые дни предтрансплантационного кондиционирования, что также позволяет истощить запасы изогемагглютининов *in vivo* [6, 7]. Одним из наиболее безопасных подходов является деплеция эритроцитов в трансплантате, данный метод широко используют при несовместимых по системе АВ0 трансплантациях у детей [8].

Терапия

После констатации ПККА необходимо принять решение об оптимальной терапии. В литературе описано множество терапевтических подходов: механическое удаление изогемагглютининов из периферической крови (плазмаферез, плазмосорбция), стимуляция эритропоэза, элиминация резидуальных В-клеток хозяина с помощью моноклональных антител против CD20 (ритуксимаб), CD38 (даратумумаб), применение ингибиторов протеасом (бортезомиб), трансфузии лимфоцитов донора, а также снижение дозы иммуносупрессивных препаратов (с целью уничтожения остаточных В-клеток путем усиления эффекта «трансплантат против плазматических клеток»).

В настоящее время нет единого подхода к терапии ПККА. Однако при выборе метода терапии рекомендуется учитывать риск развития рецидива заболевания, наличие реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), гипофункции трансплантата.

В настоящее время отсутствуют проспективные и рандомизированные исследования для оценки эффективности того или иного метода терапии ПККА. В нашем центре, опираясь на собственный опыт, мы используем следующую схему терапии.

Первая линия терапии — проведение процедур плазмафереза с замещением донорской плазмы АВ (IV) группы в объеме 2000 мл, при которой происходит механическое удаление изогемагглютининов. Аналогичным методом терапии является селективная плазмосорбция, которая проводится с помощью иммуносорбционных колонок, специфичных для одного антигена А, В или сразу для 2 антигенов. Процедуры проводят с частотой 2—3 раза в неделю, суммарно 6 процедур. Параллельно проводят постепенное снижение доз иммуносупрессивных

препаратов при отсутствии клинических признаков острой РТПХ. Ответ оценивают через 3—4 недели от начала терапии.

При отсутствии ответа или частичном ответе в качестве второй линии терапии применяется ритуксимаб в дозе 375 мг/м^2 1 раз в неделю.

При наличии гипофункции трансплантата и отсутствии признаков РТПХ возможно применение трансфузии лимфоцитов донора (в зависимости от вида трансплантации: родственные и неродственные полностью совместимые трансплантации — $1 \times 10^5/\text{кг CD3+}$, неродственные частично совместимые и родственные гаплоидентичные — $1 \times 10^4/\text{кг CD3+}$). Также возможно применение агониста тромбопоэтиновых рецепторов — элтромбопаг в начальной дозе 75 мг в сутки [9].

Высокую эффективность показал даратумумаб — моноклональное антитело IgG1к, анти-CD38. Даратумумаб вводили в дозе 16 мг/кг 1 раз в неделю в течение 4 недель, во всех случаях не было тяжелых осложнений и достигался полный ответ в виде регрессии ПККА [10—12].

Кроме того, в лечении ПККА используют бортезомиб, который вводится в дозе $1,3 \text{ мг/м}^2$ 1 раз в неделю в течение 6 недель; по литературным данным, эффективность данного метода составляет около 50%. Ранее также применялись глюкокортикоиды в различных схемах и комбинациях, однако эффективность их низкая.

При возникновении аплазии кроветворения в сочетании с ПККА в единичных работах применялись селектированные CD34+ клетки с полным ответом по ПККА [13, 14]. Основные методы терапии указаны в табл. 2.

Таблица 2. Лечение ПККА

Линия терапии	Метод терапии	Схема введения
1-я	Процедуры плазмафереза с замещением СЗП	2—3 раза в неделю, 6—8 процедур
2-я	Ритуксимаб	375 мг/м^2 1 раз в неделю, 2 введения
3-я	Селективная плазмосорбция	2—3 раза в неделю, 6—8 процедур
4-я	Трансфузия лимфоцитов донора	Родственные и неродственные полностью совместимые трансплантации — $1 \times 10^5/\text{кг CD3+}$, неродственные частично совместимые и родственные гаплоидентичные — $1 \times 10^4/\text{кг CD3+}$
5-я	Элтромбопаг	75 мг в сутки внутрь
6-я	Даратумумаб	16 мг/кг 1 раз в неделю, 4 введения
7-я	Бортезомиб	$1,3 \text{ мг/м}^2$ 1 раз в неделю в течение 6 недель
8-я	Введение селектированных CD34+ клеток	

Критерии ответа

В настоящее время унифицированных критериев оценки ответа терапии ПККА после алло-ТГСК нет, однако мы ориентируемся на следующее:

Полный ответ:

- Появление ретикулоцитоза (более 1%), увеличение концентрации гемоглобина в периферической крови спустя 4 недели от начала терапии.
- Отсутствие зависимости от трансфузий эритроцитсодержащих сред.

Частичный ответ:

- Отсутствие ретикулоцитоза в периферической крови спустя 4 недели от начала терапии.
- Снижение частоты трансфузий эритроцитсодержащих сред.

Отсутствие ответа:

- Отсутствие ретикулоцитоза в периферической крови спустя 4 недели от начала терапии.
- Сохранение анемии с прежней частотой трансфузий эритроцитсодержащих сред [15].

Литература

1. Booth GS, Gehrie EA, Bolan CD, Savani BN. Clinical guide to ABO-incompatible allogeneic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 2013; 19(8):1152—1158. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.03.018.
2. Worel N. ABO-mismatched allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transfus Med Hemother 2016; 43(1):3—12. doi: 10.1159/000441507.
3. Кузьмина Л. А., Петинати Н. А., Любимова Л. С. и др. Применение избирательной сорбции изогемагглютининов альфа у больной парциальной красноклеточной аплазией после трансплантации аллогенного костного мозга. Гематология и трансфузиология 2011; 4:40—44.
4. Zhu P, Wu Y, Cui D et al. Prevalence of pure red cell aplasia following major ABO-incompatible hematopoietic stem cell transplantation. Front Immunol 2022; 13:829670.
5. Shokrgozar N, Tamaddon G. ABO blood grouping mismatch in hematopoietic stem cell transplantation and clinical guides. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res 2018; 12(4):322—328.
6. Stussi G, Halter J, Bucheli E et al. Prevention of pure red cell aplasia after major or bidirectional ABO blood group incompatible hematopoietic stem cell transplantation by pretransplant reduction of host anti-donor isoagglutinin. Haematologica 2009; 94(2):239—248. DOI: 10.3324/haematol.13356.
7. Jarisch A, Salzmann-Manrique E, Soerensen J et al. Donor-type red blood cell transfusion to deplete isoagglutinins prior to allogeneic stem cell transplantation from ABO major incompatible bone marrow donors. Br J Haematol 2023; 201(6): 1159—1168. DOI: 10.1111/bjh.18761.

8. Balduzzi A, Bönig H, Jarisch A et al. ABO incompatible graft management in pediatric transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2021; 56(1):84–90. DOI: 10.1038/s41409-020-0981-7.
9. Busca A, Dellacasa C, Giaccone L et al. Eltrombopag for the treatment of refractory pure RBC aplasia after major ABO incompatible hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24(8):1765–1770. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.04.022.
10. Rautenberg C, Kaivers J, Germing U et al. Daratumumab for treatment of pure red cell aplasia after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55(6):1191–1193.
11. Martino R, García-Cadenas I, Esquirol A. Daratumumab may be the most effective treatment for post-engraftment pure red cell aplasia due to persistent anti-donor isohemagglutinins after major ABO-mismatched allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2022; 57(2):282–285. DOI: 10.1038/s41409-021-01507-3.
12. Chapuy CI, Kaufman RM, Alyea EP, Connors JM. Daratumumab for delayed red-cell engraftment after allogeneic transplantation. *N Engl J Med* 2018; 379(19):1846–1850.
13. Longval T, Galimard JE, Leprêtre AC et al. Treatment for pure red cell aplasia after major ABO-incompatible allogeneic stem cell transplantation: a multicentre study. *Br J Haematol* 2021; 193(4):814–826. DOI: 10.1111/bjh.17463.
14. Marco-Ayala J, Gómez-Seguí I, Sanz G, Solves P. Pure red cell aplasia after major or bidirectional ABO incompatible hematopoietic stem cell transplantation: to treat or not to treat, that is the question. *Bone Marrow Transplant* 2021; 56(4):769–778. DOI: 10.1038/s41409-020-01124-6.
15. Balasubramanian SK, Sadaps M, Thota S et al. Rational management approach to pure red cell aplasia. *Haematologica* 2018; 103(2):221–230. DOI: 10.3324/haematol.2017.175810.

Глава 34.

Осложнения, связанные с эндотелиальной дисфункцией после трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток

Введение

Повреждение эндотелия, возникающее при трансплантации аллогенных гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК), может реализоваться несколькими синдромами: трансплантат-ассоциированной тромботической микроангиопатией (ТА-ТМА), синдромом синусоидальной обструкции (ССО) печени, синдромом «приживления трансплантата» (СПТ), синдромом повышенной проницаемости капилляров (СППК). Некоторые авторы к синдромам эндотелиального повреждения причисляют и острую реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [1]. Клинические манифестации перечисленных синдромов часто перекрещиваются в своих проявлениях, классификациях и критериях.

Трансплантат-ассоциированная тромботическая микроангиопатия

ТА-ТМА — осложнение алло-ТГСК, сопровождающееся высокой летальностью вследствие развития полиорганной недостаточности [2]. ТА-ТМА относится к вторичным ТМА (рис. 1) [3], при которой повреждение эндотелия и микротромбообразование вследствие актива-

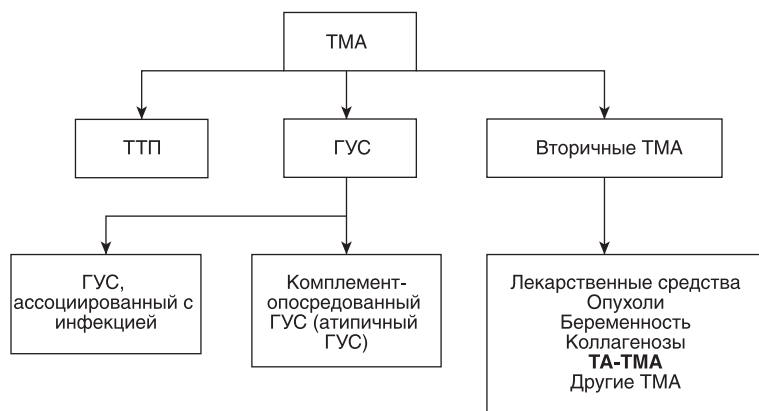


Рисунок 1. Классификация TMA согласно консенсусу по стандартизации терминологии тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП) и вторичных TMA, 2017 г. [3, 4]. ГУС — гемолитико-уремический синдром.

ции эндотелия, дисрегуляции системы комплемента и коагуляционного каскада приводят к микроангиопатической гемолитической анемии, тромбоцитопении потребления, повреждению органов-мишеней и развитию органной дисфункции.

Этиология и патогенез

Провоцирующими факторами развития ТА-TMA являются, во-первых, предшествующее повреждение эндотелия и предрасположенность к активации комплемента, во-вторых, влияние кондиционирования на эндотелий и последующее повреждение, связанное с лекарственными средствами, аллореактивными иммунными реакциями, инфекцией, составляющими концепцию «трех ударов» [5] (рис. 2). Факторы риска развития ТА-TMA: РТПХ, особенно тяжелой степени [6—14], инфекция [7, 9—11] (инвазивная грибковая инфекция [15], инфекции, вызванные цитомегаловирусом [14, 16], герпесвирусом 6-го типа, парвовирусом B19, вирусом ВК, аденовирусом [4]), применение ингибиторов кальциневрина и mTOR (mammalian target of rapamycin, мишень рапамицина млекопитающих) для профилактики РТПХ, использование режимов кондиционирования, включающих тиотепу, флударабин, бусульфан и тотальное облучение тела [8, 10, 12, 14, 15], HLA-несовместимость [7, 10, 14, 17], наличие более одной предшествующей ТГСК [8, 10, 11] и другие.

Проявлением активации системы комплемента являются увеличение концентрации мембраноатакующего комплекса, состоящего из

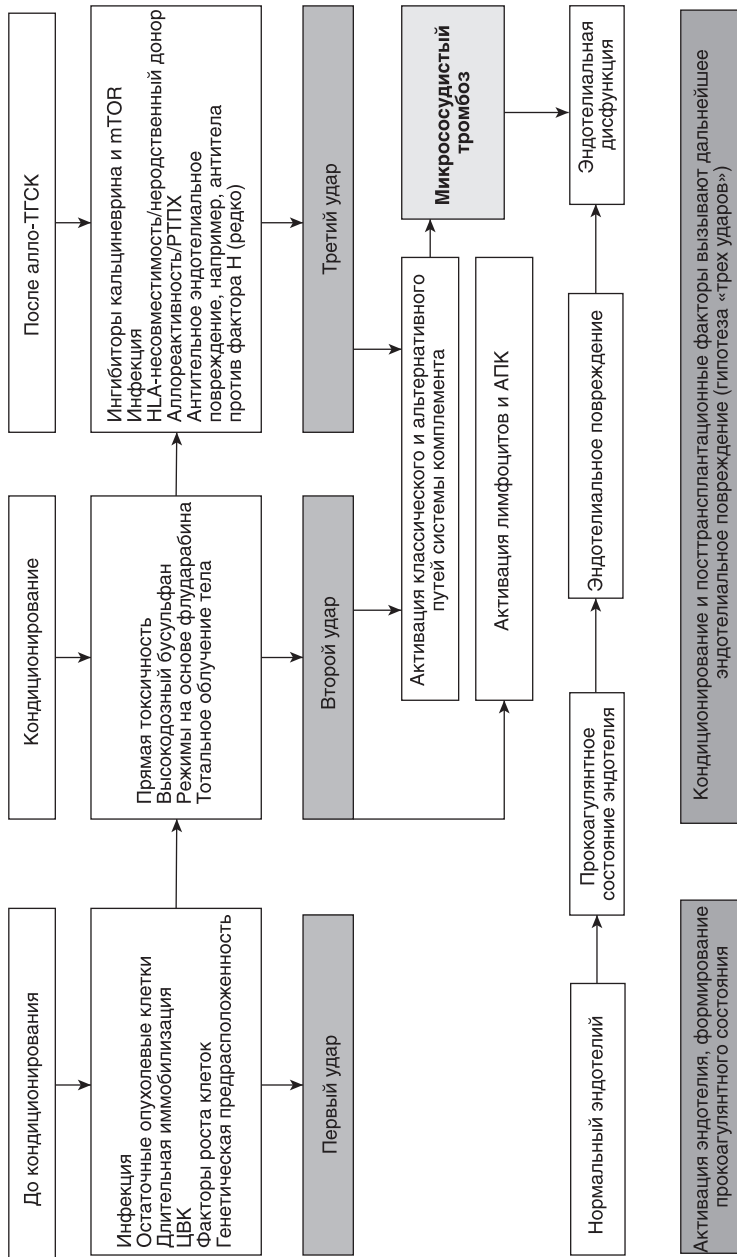


Рисунок 2. Патогенез ТА-ТМА (адаптировано из [5]). АПК — антигенпрезентирующие клетки; ЦВК — центральный венозный катетер; HLA — антигены главного комплекса гистосовместимости человека (human leukocyte anti-gens).

растворимого фрагмента компонента комплемента C5 (sC5b) и C9 (C5b-9) в крови у больных с ТА-ТМА [18—23] по сравнению с больными без ТА-ТМА [24, 25], обнаружение в сосудах и органах отложений C5b-9 и C4d [26, 27], повышение концентрации сериновой протеазы, ассоциированной с маннозосвязывающим лектином 2 (MASP-2) [28]. Большинство этих данных получены в исследованиях, в которые были включены реципиенты детского возраста, причем в детской популяции увеличение концентрации C5b-9 наблюдалось у 70% больных ТМА. Однако в российском исследовании, в которое были включены только взрослые реципиенты, не подтверждена диагностическая ценность повышения в крови содержания C5b-9 [29].

Важную роль в патогенезе ТА-ТМА играет нарушение регуляции системы комплемента. Вариации генов системы комплемента были обнаружены у 65% детей, больных ТА-ТМА, и только у 9% больных без ТА-ТМА [26]. У взрослых больных ТА-ТМА в генах компонента C3, генах белков-регуляторов компонентов системы комплемента, таких как факторы комплемента (CF) — CFB, CFH, CFI, CFHR3, а также CD46, CD55, выявлялись более редкие варианты кодирующих регионов, чем у больных без ТА-ТМА. Такие нарушения выявлены у 60% больных, которые не ответили на стандартную терапию ТА-ТМА [23]. Еще одним механизмом развития ТА-ТМА является образование антител к белку-регулятору системы комплемента CFH [26].

При изучении роли ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats, member 13) в патогенезе ТА-ТМА показано, что посттрансплантационное эндотелиальное повреждение не было связано с дефицитом ADAMTS13, хотя у большинства больных после кондиционирования активность ADAMTS13 была снижена до 65—73% в течение нескольких недель. В то же время имеются единичные наблюдения посттрансплантационной тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП), обусловленной появлением ингибиторных антител к ADAMTS13 [30].

Клинические проявления

Клинически ТА-ТМА проявляется *неиммунной микроангиопатической гемолитической анемией, тромбоцитопенией потребления и полиорганной недостаточностью* (поражение почек, желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, сердца, легких), вызванной микротромбообразованием [3]. Системные тромбозы встречаются редко [31]. Повреждение почек, ранними симптомами которого являются *артериальная гипертензия*, рефрактерная к антигипертензивной терапии, и *протеинурия*, является наиболее частым клиническим проявлением

ТА-ТМА. У детей с ТА-ТМА артериальная гипертензия и протеинурия, наряду с увеличением активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), возникали за 10—14 дней до установления диагноза ТА-ТМА [19]. У больных ТА-ТМА чаще возникает потребность в проведении заместительной почечной терапии, чем у больных без ТА-ТМА [8]. Увеличение концентрации сывороточного креатинина относят к поздним проявлениям ТА-ТМА [7, 19].

Поражения желудочно-кишечного тракта при ТА-ТМА проявляются болями в животе, диареей, тошнотой, асцитом, кишечной непроходимостью, кишечным кровотечением [32]. У 92% взрослых больных, которым выполняли колоноскопию в связи с тяжелой диареей при РТПХ с поражением кишечника, выявляли гистологические признаки кишечной ТА-ТМА [33], а при аутопсии у больных с кишечной формой ТА-ТМА в 80% случаев прижизненно была диагностирована РТПХ с поражением кишечника [34].

Для ТА-ТМА неврологические проявления менее характерны, чем для других форм ТМА (особенно для ТТП) [7]. Тем не менее описаны такие нарушения, как головные боли, судороги, спутанность сознания, галлюцинации, синдром задней обратимой лейкоэнцефалопатии [4, 35], поражение сетчатки [36].

Вовлечение легких при ТА-ТМА проявляется поражением легочных сосудов, формированием легочной гипертензии. У 13% детей при эхокардиографическом скрининге на +7-е сутки после алло-ТГСК определялось повышение давления в правом желудочке сердца, что ассоциировалось с развитием ТА-ТМА [37]. К другим симптомам относят полисерозит (гидроторакс, гидроперикард) [4]. Редким проявлением является повреждение миокарда.

В зависимости от времени манифестации выделяют раннюю форму ТА-ТМА (первые +100 дней) с медианой развития на +27-е сутки и позднюю форму (более +100 дней) с медианой на +303-и сутки.

Лабораторные проявления

Лабораторная диагностика ТА-ТМА основана на выявлении сочетания неиммунной микроангиопатической гемолитической анемии, неиммунной тромбоцитопении, маркеров поражения органов-мишеней.

Под тромбоцитопенией понимают уменьшение количества тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$ или более чем на 50% от исходных значений, если они известны. Микроангиопатический генез гемолиза устанавливают на основании обнаружения у пациента с анемией высокой активности ЛДГ в сыворотке, резко сниженной сывороточной концентрации гаптоглобина, отрицательной прямой пробы Кумбса, шистоцитов. Среди других

биохимических показателей может быть повышение концентрации билирубина сыворотки из-за гемолиза, но даже при выраженном гемолизе концентрация билирубина может оставаться в пределах нормы.

Тромбоцитопения выявляется у всех пациентов с ТА-ТМА. Она развивается вследствие потребления тромбоцитов при образовании тромбов.

Необходимо выполнение остальных скрининговых тестов для выявления поражений других органов и систем. При диагностике ТА-ТМА необходимо провести инструментальное обследование для скрининга органной дисфункции, а также наличия конкурирующей или сопутствующей патологии.

Эпидемиология

Частота выявления ТА-ТМА по данным разных исследований варьирует от 0,5% до 76% [7, 38]; она выше у детей, чем у взрослых. По данным метаанализа, в который были включены 36 163 больных из 24 исследований, частота ТА-ТМА составила 12%. По данным исследования, проведенного в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, частота выявления ТА-ТМА у взрослых реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) составила 4,3% [29]. При острой и хронической РТПХ, а также РТПХ, резистентной к терапии глюкокортикоидными гормонами, частота ТА-ТМА достигала 12,5% и 8% соответственно [39].

Летальность при ТА-ТМА превышает 50% в течение года после алло-ТГСК. В среднем летальность больных с ТА-ТМА на 15% выше, чем больных без ТА-ТМА [40]. В течение последних десятилетий наблюдается уменьшение летальности при ТА-ТМА: если в 2004 г. 3-месячная летальность была 82% [44], то в 2020 г. 3-месячная летальность составила 35% [8], что обусловлено лучшим контролем РТПХ [65]. Протеинурия является маркером тяжести заболевания и прогностически неблагоприятным фактором [19]. Уменьшение клиренса креатинина на 50% в сравнении с исходным значением относят к факторам неблагоприятного прогноза [7].

Критерии диагноза

Для диагностики ТА-ТМА предложены различные критерии (табл. 1 и 2).

В 2022 г. были опубликованы *совместные клинические рекомендации* по диагностике ТА-ТМА с участием Европейского общества трансплантации костного мозга (ЕВМТ), Американского общества трансплантации костного мозга и клеточной терапии (ASTCT), Азиатско-Тихоокеанской группы трансплантации клеток крови и костного

Таблица 1. Диагностические критерии ТА-ТМА (адаптировано из [2])

Клинические или лабораторные параметры	Критерии ВМТ-СМТ, 2005 г. (Ho et al. [41])	Критерии IWG-ТМА, 2007 г. (Ruitu et al. [42])	Общие критерии ТМА, 2010 г. (Cho et al. [7])	Критерии центра «Город надежды», 2012 г. (Shayani et al. [14])	Критерии объединенной рабочей группы, 2014 г. (Uderzo et al. [43])	Критерии Jodele ⁷ , 2014 и 2018 гг. (Jodele et al. [19, 44])
Шистозиты	≥ 2 в поле зрения	> 4% (или 8 в поле зрения)	≥ 2 в поле зрения	Да	> 1–2 в поле зрения	Да
Отрицательная прямая проба Кумбса	Да	–	Да	–	Да	–
Сопутствующая почечная и/или неврологическая дисфункция, не объяснимые другими причинами ¹	Да	–	–	Креатинин сыворотки более чем в 1,5 раза выше исходного	Протеинурия и артериальная гипертензия	Протеинурия и артериальная гипертензия
Уменьшение концентрации сывороточного гаптоглобина	–	Да	Да	–	Да	–
Тромбоцитопения <i>de novo</i> ²	–	Да	Да	Да	Да	Да
Анемия <i>de novo</i> ³	–	Да	Да	–	Да	Да
* Увеличение активности сывороточной ЛДГ	Да	Да	Да	Да	Да	Да
* Артериальная гипертензия ⁴	–	–	–	–	Да	Да
* § Протеинурия ⁵	–	–	–	–	Да	Да

Таблица 1 (окончание). Диагностические критерии ТА-ТМА (адаптировано из [2])

Клинические или лабораторные параметры	Критерии BMT-CMT, 2005 г. (Ho et al. [41])	Критерии IWG-TMA, 2007 г. (Ruutu et al. [42])	Общие критерии TMA, 2010 г. (Cho et al. [7])	Критерии центра «Город надежды», 2012 г. (Shayani et al. [14])	Критерии объединенной рабочей группы, 2014 г. (Uderzo et al. [43])	Критерии Jodele ⁷ , 2014 и 2018 гг. (Jodele et al. [19, 44])
§ Увеличение концентрации плазменного C5b-9 (активация терминального компонента системы комплемента)	—	—	—	—	Да	Да

BMT-CTN (Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network) — объединение сети центров, занимающихся клиническими исследованиями в области трансплантации костного мозга; IWG (International Working Group) — Международная рабочая группа.

*Ранние маркеры TMA (позднее на ТА-TMA).

§ Маркеры TMA высокого риска [19].

- 1 Увеличение концентрации сывороточного креатинина влвое относительно исходного значения (до кондиционирования) или уменьшение клиренса креатинина на 50% в сравнении с исходным значением.
- 2 Количество тромбоцитов $\leq 50 \times 10^9/\text{л}$ или их уменьшение на 50% в сравнении с предыдущим значением.
- 3 Уменьшение концентрации гемоглобина или увеличение потребности в трансфузиях эритроцитосодержащих компонентов крови.
- 4 Артериальное давление $\geq 140/90$ мм рт. ст.; резистентность к двум и более антигипертензивным препаратам.
- 5 Концентрация общего белка ≥ 3 мг/дл в произвольном анализе мочи.
- 6 Вероятная ТА-TMA: необходимо 3 из 4 критериев в сочетании с клиническим диагнозом, установленным лечащим врачом; точная ТА-TMA: необходимы все 4 критерия.
- 7 Диагноз ТА-TMA устанавливается при гистологическом подтверждении микроангиопатии или при наличии ≥ 4 диагностических маркеров в один момент времени.

мозга (АРВМТ) и Центра международных исследований трансплантации клеток крови и костного мозга (СІВМТR) [45] (табл. 2), которые включили уточненные критерии анемии и тромбоцитопении. «Золотым стандартом» диагностики является биопсия поврежденного органа, что не всегда возможно. Шистоциты, органная дисфункция, отрицательная прямая проба Кумбса не являются обязательными для установления диагноза ТА-ТМА.

Таблица 2. Критерии диагностики ТА-ТМА 2022 г. (адаптировано из [45])

ТА-ТМА, доказанная гистологически (биопсия почки или слизистой желудочно-кишечного тракта)	
или	
Наличие ≥ 4 из 7 следующих критериев в двух последовательных временных точках в течение 14 дней	
Анемия	1. Невозможность достигнуть независимости от трансфузий эритроцитсодержащих компонентов крови, несмотря на восстановление миелопоэза. 2. Уменьшение концентрации гемоглобина ≥ 10 г/л от исходного значения. 3. Появление зависимости от трансфузий эритроцитсодержащих компонентов крови <i>de novo</i>. Следует исключить другие причины анемии, такие как АИГА и ПККА
Тромбоцитопения	1. Невозможность достигнуть восстановления тромбоцитопоэза. 2. Потребность в трансфузиях донорских тромбоцитов больше ожидаемой. 3. Рефрактерность к трансфузиям донорских тромбоцитов. 4. Уменьшение концентрации тромбоцитов на $\geq 50\%$ от исходного значения после восстановления тромбоцитопоэза
Увеличение активности ЛДГ	Больше верхней границы нормы для соответствующего возраста
Шистоциты	Выявляются
Артериальная гипертензия	Артериальное давление $\geq 140/90$ мм рт. ст. (у взрослых)
Увеличение концентрации C5b-9	Больше верхней границы нормы
Протеинурия (соотношение белка разовой порции мочи к креатинину разовой порции мочи)	≥ 1 мг/мг
АИГА — аутоиммунная гемолитическая анемия; ПККА — парциальная красноклеточная аплазия.	

Алгоритм диагностики

Всем реципиентам алло-ТГСК следует проводить скрининг ТА-ТМА до +100-го дня и далее в случае наличия осложнений (например, РТПХ, инфекция). Скрининг включает регулярное определение:

- 1) общего анализа крови;
- 2) биохимического анализа крови, в том числе активности ЛДГ;
- 3) общего анализа мочи.

Подозрение на ТА-ТМА возникает при сочетании:

- появления и/или усугубления тромбоцитопении;
- появления немотивированной анемии;
- увеличения сывороточной активности ЛДГ выше верхнего референсного значения;
- развития артериальной гипертензии;
- появления острого почечного повреждения или ухудшения имеющегося нарушения функции почек, появления неврологической симптоматики;
- появления протеинурии.

При возникновении подозрения на развитие ТА-ТМА следует дополнительно выполнить:

- визуальный подсчет шистоцитов и тромбоцитов в мазке крови;
- исследование сывороточной концентрации гаптоглобина;
- определение концентраций фракций сывороточного билирубина;
- определение концентрации свободного гемоглобина в плазме крови;
- прямую пробу Кумбса;
- расчет соотношения белка разовой порции мочи к креатинину разовой порции мочи;
- исследования для определения вовлечения органов-мишеней;
- исследования для исключения других причин анемии, гемолиза, тромбоцитопении, органной дисфункции.

Определение маркеров активации комплемента не является обязательным. В целях исключения ТТП возможно определение активности ADAMTS13 (активность ADAMTS13 определяют с плазме крови пациента до трансфузий донорской плазмы).

Лечение

Терапевтические опции при ТА-ТМА включают: выявление и лечение провоцирующих факторов, блокаду системы комплемента, смену режимов иммуносупрессии, терапевтический плазмообмен.

В сопроводительной терапии важное значение имеет минимизация трансфузий компонентов донорской крови (риск большего потребления тромбоцитов), контроль артериальной гипертензии.

Некоторые формы ТА-ТМА могут носить транзиторный характер и излечиваться при устранении провоцирующих ее причин.

В ряде исследований показано, что отмена ингибиторов кальциневрина не способствовала улучшению выживаемости при ТА-ТМА [10, 12], а их отмена приводила к потере контроля над РТПХ [10]. С другой стороны, легкие формы ТА-ТМА являются часто лекарственно обусловленными и исчезают при прерывании терапии ингибиторами кальциневрина [8]. Риск лекарственно индуцированной ТА-ТМА выше при одновременном приеме ингибиторов кальциневрина (такролимуса) [46] и mTOR (сиролимуса) [8] и при высокой концентрации (> 25 нг/мл) такролимуса в крови [15]. Российские авторы [47] показали, что замена ингибиторов кальциневрина на сиролимус ассоциировалось с более быстрой нормализацией активности ЛДГ сыворотки и улучшением однолетней общей выживаемости (ОВ) в сравнении с заменой на глюкокортикоидные гормоны.

Согласно рекомендациям Американского общества афереза, значение проведения терапевтического плазмообмена при ТА-ТМА не определено (категория доказательств III) с низким качеством доказательств (степень 2C) [41, 48—50]. В исследовании, в котором плазмообмен проводили 82 больным ТА-ТМА, частота общего ответа составила 52,4% [51]. Независимыми факторами неэффективности плазмообмена были желудочно-кишечное кровотечение, РТПХ 3—4-й степени, малый кумулятивный объем замещения, тяжелая анемия. Из 82 больных 66 умерли в течение 100 дней после установления диагноза ТА-ТМА.

Блокада системы комплемента (табл. 3) может быть осуществлена экулизумабом, который представляет собой гуманизированное моноклональное антитело, связывающее компонент комплемента C5 и предотвращающий его расщепление на C5a и C5b. У детей частота ответа на экулизумаб достигала 64%, однолетняя ОВ — 66% при ТА-ТМА высокого риска [18]. Данные об эффективности экулизумаба у взрослых больных ограничены [52—54]. Хотя было показано, что введение экулизумаба безопасно даже при отсутствии предварительной вакцинации против *Neisseria meningitidis*, если назначена адекватная антибиотикопрофилактика [55], имеются сведения об увеличении летальности, обусловленной инфекцией после назначения экулизумаба [56]. Экулизумаб для лечения ТА-ТМА назначают *off-label* в дозе 900 мг с интервалом 7 дней, на протяжении не менее 4 недель или до достижения контроля над ТА-ТМА [18].

Ингибитор MASP-2 нарсоплимаб (не зарегистрирован в РФ) влияет только на лектиновый путь активации комплемента, не затрагивая классический путь, и потому не нарушает защитную функцию имму-

нитета, направленную против инкапсулированных бактерий. Частота ответа при лечении ТА-ТМА у взрослых больных нарсоплимбом достигала 74%, а 100-дневная ОВ 68% среди всех больных и 94% — среди тех, у кого был получен ответ [57].

Таблица 3. Ингибиторы системы комплемента, исследуемые для лечения ТА-ТМА

Препарат	Механизм действия	Класс лекарственного средства	Ссылка на клиническое исследование
Экулизумаб	C5-ингибитор	Моноклональное антитело	[58]
Равализумаб	C5-ингибитор	Моноклональное антитело	[59, 60]
Номакопан*	Ингибитор C3 и LTВ4	Рекомбинантный белок	[61]
Нарсоплимаб*	MASP-2-ингибитор	Моноклональное антитело	[62]
LTВ4 — лейкотриен В4. * Не зарегистрирован в РФ.			

Синдром синусоидальной обструкции печени

Введение

Синдром синусоидальной обструкции (ССО) печени, ранее называвшийся веноокклюзионная болезнь печени, — это осложнение ТГСК, возникающее после высокодозного кондиционирования с использованием алкилирующих агентов (бусульфан, циклофосфамид, мелфалан, тиотепа), в основе которого лежит повреждение эндотелия сосудов печени и тромботическая обструкция синусоидов, приводящие к некрозу гепатоцитов [63]. Название «веноокклюзионная болезнь» связано с выявленным при световой микроскопии повреждением центральной вены печени, однако дальнейшее изучение этого осложнения показало, что окклюзия центральной вены обнаруживается лишь у половины пациентов с легким и средним течением и в 75% случаев при тяжелой форме. Первоначально повреждение происходит на уровне синусоидальных эндотелиальных клеток, а окклюзия центральной вены печени не является обязательной, в связи с чем предложено использовать термин ССО [64]. Частота выявления ССО печени составляет 5—15% и зависит от факторов риска и интенсивности кондиционирования [65].

Патогенез и факторы риска

Миелоаблативное кондиционирование является главным фактором риска возникновения ССО, однако возможно ее развитие и после не-

миелоаблативных режимов, в том числе после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) [66] (табл. 4). Концентрация бусульфана прямо влияет на вероятность возникновения ССО.

Таблица 4. Факторы риска ССО (адаптировано из [65, 68])

Немодифицируемые факторы риска	Модифицируемые факторы риска
Повторная ТГСК	Кондиционирование: высокодозное (миелоаблативное) кондиционирование; высокие дозы бусульфана или пероральный бусульфан; высокие дозы треосульфана; высокодозное тотальное облучение тела
Прогрессия заболевания (вторая полная ремиссия или рецидив)	
Заболевание: Незлокачественное < злокачественное < некоторые заболевания*	
Диагноз первичного иммунодефицита	
Пол (чаще страдают женщины)	
Генетические факторы («нулевой» генотип глутатион-S-трансфераз M1, 677CC/1298CC гаплотип гена <i>MTGFR</i> и т. д.)	
Пожилой возраст	Донор: неродственный; HLA-несовместимый
Повышенная активность сывороточных аминотрансфераз до ТГСК	
Индекс Карновского < 90%	
Метаболический синдром	
Прием норэтистерона	Профилактика РТПХ: сиролимус + метотрексат + такролимус; метотрексат + циклоспорин или такролимус; трансплантат без Т-клеточной деплеции
Предшествующее использование гемтузумаба озогамидина или инотузумаба озогамидина	
Прием гепатотоксичных препаратов	
Перегрузка железом	
Увеличенная концентрация сывороточного билирубина до ТГСК	Использование парентерального питания
Фоновое заболевание печени: фиброз, цирроз, активный вирусный гепатит	
Лучевая терапия на область живота или печени	
*При таких заболеваниях, как остеопетроз, адренолейкодистрофия, талассемия, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз или нейробластома, частота развития ССО выше.	

В процессе печеночного метаболизма некоторых лекарственных препаратов (например, циклофосфида) ферментативной системой цитохрома P450 образуются токсичные метаболиты (акролеин), которые превращаются в стабильные (нетоксичные) с помощью ферментативной системы глутатиона, а затем удаляются из организма. У пациентов

со сниженной активностью глутатиона, вызванной заболеванием печени в анамнезе или действием таких препаратов, как бусульфан, кармустин, или тотального облучения тела, при которых потребляется глутатион, токсические метаболиты не инактивируются, а преимущественно локализуются в области 3-й зоны ацинуса печени (вокруг центральных вен), поскольку эта область богата цитохромом P450 и бедна глутатионом. Поражение гепатоцитов и синусоидального эндотелия происходит преимущественно в этой зоне [67]. Другие факторы также могут способствовать повреждению эндотелиальных клеток синусоидов, создавая разрывы в синусоидальном барьере печени. Вследствие этого в пространстве Диссе под эндотелиальными клетками накапливаются эритроциты, лейкоциты и клеточный дебрис, отделяющий синусоидальную оболочку, которая блокирует синусоиды, уменьшая печеночный венозный отток и вызывая постсинусоидальную гипертензию. В итоге ССО может вызвать гепатоцеллюлярный некроз, фиброз, окклюзию сосудов с печеночной недостаточностью, гепаторенальный синдром, полиорганную недостаточность и летальный исход [68, 69].

Клинические проявления и критерии диагностики

Клиническая картина включает в себя асцит, прибавку массы тела, болезненную гепатомегалию, гипербилирубинемия, которые обусловлены портальной гипертензией вследствие обструкции печеночных синусоидов. ССО устанавливают на основании клинических критериев EBMT [70], пересмотренных в 2023 г. [65] (табл. 5). Доказанным считается диагноз ССО, установленный на основании гистологического исследования или гемодинамических признаков.

Таблица 5. EBMT-критерии ССО 2023 г. [65]

Вероятный диагноз ССО	Клинически подтвержденный диагноз ССО	Доказанный диагноз ССО
Развитие в течение 21 дня после ТГСК: классический ССО	Развитие более чем через 21 день после ТГСК: поздний ССО	
Обязательное присутствие двух критериев из: Концентрация билирубина ≥ 2 мг/дл (34 мкмоль/л). Болезненная гепатомегалия. Прибавка массы тела $\geq 5\%$. Асцит. Ультразвуковые и/или эластографические признаки ССО	Концентрация билирубина ≥ 2 мг/дл (34 мкмоль/л) и присутствие двух критериев из: Болезненная гепатомегалия. Прибавка массы тела $\geq 5\%$. Асцит	ССО, доказанный гистологически или на основании гемодинамических признаков (градиент печеночного венозного давления ≥ 10 мм рт. ст.)

Выполнение биопсии печени у больных, перенесших алло-ТГСК, ограничено риском геморрагических осложнений. Возможно проведение эндоваскулярной биопсии печени трансъюгулярным доступом, частота тяжелых геморрагических осложнений при которой невысокая (1,8%) [71]. В качестве альтернативы биопсии печени в рекомендациях ЕВМТ 2023 г. указаны *гемодинамические признаки ССО*, к которым относят прямое эндоваскулярное измерение градиента печеночного венозного давления. Его значение ≥ 10 мм рт. ст. позволяет подтвердить диагноз ССО у больных *без предшествующего заболевания печени* [65].

К неинвазивным методам диагностики ССО относят ультразвуковое исследование (УЗИ) и эластографию. Магнитно-резонансная и компьютерная томографии способны выявить только неспецифические признаки ССО [72]. УЗИ позволяет выявить гепатомегалию, спленомегалию, утолщение стенок желчного пузыря, асцит, *нарушения портального кровотока, печеночного кровотока* [73]. Уменьшение скорости кровотока и ретроградный ток крови в воротной системе, повышенный индекс резистивности печеночной артерии считаются наиболее специфичными для ССО (табл. 6) [65].

Таблица 6. Ультразвуковые признаки ССО (адаптировано из [73])

Режим	Признаки ССО
В-режим	Гепатоспленомегалия
	Утолщение стенок желчного пузыря > 6 мм
	Диаметр воротной вены > 12 мм
	Диаметр печеночной вены < 3 мм
	Признаки портальной гипертензии: асцит, коллатеральный кровоток
Допплеро- ское иссле- дование	Диаметр печеночной вены < 3 мм
	Визуализация коллатерального кровотока
	Изменение кровотока в воротной вене
	Линейная скорость кровотока в воротной вене < 10 см/с
	Снижение спектральной плотности
	Индекс венозного застоя $< 0,1$ (отношение линейной скорости кровотока к диаметру или площади сечения воротной вены)
	Индекс резистивности печеночной артерии $> 0,75$
	Монофазный кровоток в печеночной вене

В соответствии с критериями ЕВМТ, выделяют 4 степени тяжести ССО (табл. 7). Тяжелый ССО сопровождается полиорганной недостаточностью и высокой летальностью (более 84%) [66]. Для выявления полиорганной недостаточности рекомендуется использовать шкалу SOFA.

Таблица 7. Степень тяжести ССО согласно ЕВМТ-критериям 2023 г. [65]

Параметр	Степень тяжести			
	Легкая	Средняя	Тяжелая	Крайне тяжелая — полиорганная недостаточность
Время от первых клинических симптомов ССО	Более 7 дней	5—7 дней	≤ 4 дней	Любое
Концентрация билирубина (мкмоль/л)	34—51	51—85	85—136	≥ 136
Динамика концентрации билирубина	—	—	Удвоение за 48 часов	—
Аминотрансферазы	≤ 2 норм	> 2 и ≤ 5 норм	> 5 и ≤ 8 норм	> 8 норм
Прибавка массы тела	< 5%	≥ 5% и < 10%	≥ 5% и < 10%	> 10%
Почечная дисфункция: увеличение концентрации креатинина от дотрансплантационного уровня	< 1,2 раза	≥ 1,2 и < 1,5 раза	≥ 1,2 и < 1,5 раза	≥ 2 раз или полиорганная недостаточность

Диагностика

Обследование при ССО включает:

1. Общий анализ крови.
2. Биохимический анализ крови.
3. Ежедневный контроль массы тела и кумулятивного водного баланса.
4. УЗИ органов брюшной полости.
5. Ультразвуковая доплерография сосудов печени и портального кровотока с расчетом скорости кровотока и ретроградного кровотока в воротной системе, индекса резистивности печеночной артерии.
6. Обследование для исключения других причин печеночной дисфункции (острая РТПХ печени, вирусные гепатиты, лекарственная токсичность и др.).
7. Инвазивные методы диагностики при необходимости (трансъюглярное измерение градиента давления печеночных вен и трансъюглярная биопсия печени).

Профилактика и лечение

К профилактическим мерам относят модификацию факторов риска [лечение перегрузки железом; терапия вирусного гепатита, откладывание ТГСК при активном гепатите; снижение интенсивности кондиционирования; избегание приема ингибиторов кальциневрина для профилактики РТПХ (если это невозможно, лучше использовать такролимус вместо циклоспорина); избегание гепатотоксических препаратов] и назначение *урсодезоксихолевой кислоты в дозе 12 мг/кг/сут* с момента начала

кондиционирования до +90-го дня после алло-ТГСК. Важен предтрансплантационный контроль за дозировкой бусульфана. Расчет бусульфана должен вестись с учетом идеальной массы тела, а не фактической. Использование нефракционированного гепарина не является эффективным методом профилактики ССО. В проспективном рандомизированном клиническом исследовании III фазы сравнения дефибротида с лучшей поддерживающей терапией для профилактики ССО у 372 детей и взрослых с высоким риском ССО после ТГСК не было выявлено существенной разницы между группами: выживаемость без ССО на +30-й день составила 67% против 73% соответственно, $p = 0,85$ [74].

При легких формах ССО проводят поддерживающее неспецифическое лечение. При тяжелых формах ССО терапевтические опции ограничены применением дефибротида [75]. Экспертами ЕВМТ рекомендовано назначение дефибротида и для средней степени тяжести ССО [65]. Препарат не зарегистрирован в РФ, его применение возможно после получения именного одобрения. Дефибрид назначается в дозе *25 мг/кг/сутки в течение 14—21 дня* до регресса симптомов ССО [76].

В случае развития полиорганной недостаточности необходимо своевременное начало интенсивной терапии. Частота встречаемости ССО среди госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) реципиентов аллогенных ГСК составила 5%, при этом частота ССО крайне тяжелого течения была 69% [77]. Внутроболезничная летальность составила 54%, а при проведении искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и заместительной почечной терапии — 93%. Описаны случаи развития фульминантной печеночной недостаточности при ССО. Сообщалось об успешном выполнении ортотопической трансплантации печени [78].

Синдром «приживления трансплантата»

СПТ относится к неинфекционным осложнениям ТГСК, возникает в раннем посттрансплантационном периоде (96 часов перед или после восстановления гранулоцитов) и способен осложниться острой дыхательной недостаточностью [79].

Патогенез и факторы риска

В основе патогенеза СПТ лежит восстановление миелопоэза, которое опережает восстановление регуляторных Т-клеток, что приводит к неконтролируемой активации и дегрануляции нейтрофилов и высвобождению провоспалительных цитокинов (интерлейкина-2, фактора некроза опухоли α , интерферона- γ , интрелейкина-6, эритропоэтина), что приводит к системному повреждению эндотелия [68, 80].

Факторами риска СПТ являются:

- ауто-ТГСК при заболеваниях, не подвергавшихся интенсивной химиотерапии до ТГСК;
- интенсивность кондиционирования (немиелоаблативное кондиционирование < мелфалан < схема BEAM < циклофосфамид / тотальное облучение тела);
- у пациентов с множественной миеломой предыдущее лечение бортезомибом и леналидомидом [81];
- использование ГСК из периферической крови или гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ).

Клинические проявления и критерии диагноза

СПТ проявляется неинфекционной лихорадкой, неинфекционной диареей, макулопапулезной сыпью на коже, задержкой жидкости, некардиогенным отеком легких и органной дисфункцией [82]. Он имеет схожие симптомы с инфекцией, острой РТПХ, лекарственной токсичностью. Отсутствие патогномоничных критериев диагноза [83] приводит к большому разбросу частоты выявления этого синдрома (10—48%) [84, 85] (табл. 8).

Таблица 8. Диагностические критерии СПТ (адаптировано из [83])

	Критерии Spitzer [86]	Критерии Maiolino et al. [87]
Обоснование	3 больших критерия или 2 больших критерия + 1 малый критерий	Большой критерий + 1 малый критерий
Большие критерии	Температура $\geq 38,3$ °C без идентифицированного источника инфекции. Эритродерматозная сыпь > 25% площади поверхности тела (не связанная с лекарственными средствами). Некардиогенный отек легких	Лихорадка неинфекционного генеза
Малые критерии	Печеночная дисфункция: концентрация билирубина ≥ 34 мкмоль/л или активность аминотрансфераз ≥ 2 норм. Почечное повреждение: концентрация креатинина ≥ 2 норм. Прибавка масса тела $\geq 2,5\%$ в сравнении с исходной. Транзиторная энцефалопатия, не объяснимая другими причинами	Кожная сыпь. Инфильтративные изменения в легких. Диарея
Время развития	Появление симптомов в пределах 4 дней от приживления*	Появление симптомов в пределах одного дня от приживления
* Количество нейтрофилов $\geq 0,5 \times 10^9$ /л в течение двух последующих дней.		

В пользу СПТ могут свидетельствовать отсутствие доказанной инфекции, гистологических признаков острой РТПХ, регресс клинических проявлений без лечения или после кратковременного лечения глюкокортикостероидами [82]. Частота встречаемости тяжелого СПТ составила всего 2,3% среди 878 реципиентов алло-ГСК младше 18 лет, во всех случаях потребовалось проведение ИВЛ [79]. Описан СПТ, который развился у мужчины 20 лет на +11-й день алло-ТГСК, сопровождался резким приростом количества нейтрофилов и проявлялся лихорадкой, сыпью, острым повреждением почек, острой дыхательной недостаточностью, двусторонними легочными инфильтратами, артериальной гипотензией, что потребовало проведения ИВЛ [83]. Микробиологические исследования не выявили признаков инфекции. Состояние больного улучшилось после назначения короткого курса терапии метилпреднизолоном [83].

Профилактика и лечение

С целью профилактики СПТ у пациентов из группы высокого риска следует избегать использования Г-КСФ после ТГСК. При подозрении на развитие СПТ необходимо прекратить введение Г-КСФ.

В случае сохранения лихорадки более чем через 48 часов лечения антибактериальными препаратами необходимо назначение метилпреднизолона, 1 мг/кг каждые 12 часов (в течение 3 дней) с постепенным снижением дозы в течение 1 недели. При раннем назначении метилпреднизолона достижение полной ремиссии возможно у 90% больных, а задержка терапии может привести к развитию полиорганной недостаточности. При отмене метилпреднизолона могут наблюдаться рецидивы СПТ, для терапии которых возможно повторное назначение ГКС [88].

Синдром повышенной проницаемости капилляров

СППК проявляется задержкой жидкости, внезапным необъяснимым появлением генерализованных отеков, не поддающихся лечению диуретиками, гипоальбуминемией, артериальной гипотензией, которая в конечном итоге приводит к полиорганной недостаточности вследствие повреждения эндотелия капилляров цитокинами и фактором роста эндотелия сосудов. Время развития: первые 15 дней после алло-ТГСК. Частота возникновения 6—42% всех алло-ТГСК, не встречается при ауто-ТГСК. Алло-ТГСК от неродственного донора, введение Г-КСФ и интенсивная химио- или лучевая терапия относятся к возможным факторам риска развития СППК [68, 89, 90].

Диагностические критерии [89]

1. Раннее начало (+10-й, +11-й день после алло-ТГСК).
2. Увеличение массы тела более чем на 3% за счет задержки жидкости в течение 24 часов.
3. Отсутствие эффекта от терапии петлевыми диуретиками (фуросемид, как минимум 1 мг/кг).

Лечение

Лечение СППК включает в себя отмену ростовых факторов, проведение симптоматической терапии: назначение глюкокортикоидов, диуретиков, ограничение инфузии жидкости при отсутствии гипотензии, восполнение объема циркулирующей крови при наличии артериальной гипотензии, тщательный мониторинг и коррекция концентрации циклоспорина и такролимуса, использование заместительной почечной терапии. Возможно использование патогенетического лечения: назначение антагониста фактора роста эндотелия сосудов — бевацизумаба.

Развитие СППК часто требует наблюдения в условиях ОРИТ и значительно увеличивает риск трансплантационной летальности в течение первых 100 дней после алло-ТГСК.

Заключение

Ведение больных с осложнениями, обусловленными повреждением эндотелия, остается сложной диагностической и терапевтической задачей при проведении алло-ТГСК, что требует от гематологов повышенной настороженности для своевременного выявления этих синдромов и начала лечения.

Литература

1. Gavrilaki E, Ho VT, Schwaeble W et al. Role of the lectin pathway of complement in hematopoietic stem cell transplantation-associated endothelial injury and thrombotic microangiopathy. *Exp Hematol Oncol* 2021; 10(1):57. DOI: 10.1186/S40164-021-00249-8.
2. Young JA, Pallas CR, Knovich MA. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: theoretical considerations and a practical approach to an unrefined diagnosis. *Bone Marrow Transpl* 2021; 56(8):1805—1817. DOI: 10.1038/S41409-021-01283-0.
3. Scully M, Cataland S, Coppo P et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 2017; 15(2):312—322. DOI: 10.1111/jth.13571.

4. Carreras E, Diaz-Ricart M. Early complications of endothelial origin. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N (editors). EBMT handbook. 7th edition. Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. Cham (CH): Springer; 2019. P. 315—322. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5_42.
5. Alyea E, Dvorak CC, Ho VT et al. Best practices in the diagnosis of HSCT-TMA: implications for current and emerging treatments. URL: pathlms.com/mededibus/courses/16529. 2020.
6. Van Benschoten V, Roy C, Gupta R et al. Incidence and risk factors of transplantation-associated thrombotic microangiopathy: a systematic review and meta-analysis. *Transpl Cell Ther* 2022; 28(5):266.e1—266.e8. DOI: 10.1016/J.JTCT.2022.01.009.
7. Cho BS, Yahng SA, Lee SSE et al. Validation of recently proposed consensus criteria for thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2010; 90(8):918—926. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181f24e8d.
8. Epperla N, Li A, Logan B et al. Incidence, risk factors for and outcomes of transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Br J Haematol* 2020; 189(6): 1171—1181. DOI: 10.1111/BJH.16457.
9. Gavrilaki E, Sakellari I, Batsis I et al. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: Incidence, prognostic factors, morbidity, and mortality in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Clin Transpl* 2018; 32(9):e13371. DOI: 10.1111/CTR.13371.
10. Li A, Wu Q, Davis C et al. Transplant-associated thrombotic microangiopathy is a multifactorial disease unresponsive to immunosuppressant withdrawal. *Biol Blood Marrow Transpl* 2019; 25(3):570—576. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.10.015.
11. Schoettler M, Lehmann LE, Margossian S et al. Risk factors for transplant-associated thrombotic microangiopathy and mortality in a pediatric cohort. *Blood Adv* 2020; 4(11):2536—2547. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001242.
12. Uderzo C, Bonanomi S, Busca A et al. Risk factors and severe outcome in thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* 2006; 82(5):638—644. DOI: 10.1097/01.TP.0000230373.82376.46.
13. Zeisbrich M, Becker N, Benner A et al. Transplant-associated thrombotic microangiopathy is an endothelial complication associated with refractoriness of acute GvHD. *Bone Marrow Transpl* 2017; 52(10):1399—13405. DOI: 10.1038/BMT.2017.119.
14. Shayani S, Palmer J, Stiller T et al. Thrombotic microangiopathy associated with sirolimus level after allogeneic hematopoietic cell transplantation with tacrolimus/sirolimus-based graft-versus-host disease prophylaxis. *Biol Blood Marrow Transpl* 2013; 19(2):298—304. DOI: 10.1016/J.BBMT.2012.10.006.
15. Labrador J, López-Corral L, López-Godino O et al. Risk factors for thrombotic microangiopathy in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving GVHD prophylaxis with tacrolimus plus MTX or sirolimus. *Bone Marrow Transpl* 2014; 49(5):684—690. DOI: 10.1038/BMT.2014.17.

16. Java A, Edwards A, Rossi A et al. Cytomegalovirus-induced thrombotic microangiopathy after renal transplant successfully treated with eculizumab: case report and review of the literature. *Transpl Int* 2015; 28(9):1121—1125. DOI: 10.1111/TRI.12582.
17. Martinez MT, Bucher C, Stussi G et al. Transplant-associated microangiopathy (TAM) in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants. *Bone Marrow Transpl* 2005; 36(11):993—1000. DOI: 10.1038/SJ.BMT.1705160.
18. Jodele S, Dandoy CE, Lane A et al. Complement blockade for TA-TMA: lessons learned from a large pediatric cohort treated with eculizumab. *Blood* 2020; 135(13):1049—1057. DOI: 10.1182/BLOOD.2019004218.
19. Jodele S, Davies SM, Lane A et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: A study in children and young adults. *Blood* 2014; 124(4):645—653. DOI: 10.1182/blood-2014-03-564997.
20. Horváth O, Kállay K, Csuka D et al. Early increase in complement terminal pathway activation marker sC5b-9 is predictive for the development of thrombotic microangiopathy after stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl* 2018; 24(5):989—996. DOI: 10.1016/J.BBMT.2018.01.009.
21. Qi J, Wang J, Chen J et al. Plasma levels of complement activation fragments C3b and sC5b-9 significantly increased in patients with thrombotic microangiopathy after allogeneic stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2017; 96(11):1849—1855. DOI: 10.1007/S00277-017-3092-9.
22. Jodele S, Fukuda T, Mizuno K et al. Variable eculizumab clearance requires pharmacodynamic monitoring to optimize therapy for thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl* 2016; 22(2):307—315. DOI: 10.1016/J.BBMT.2015.10.002.
23. Gavrilaki E, Touloumenidou T, Sakellari I et al. Pretransplant genetic susceptibility: clinical relevance in transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Thromb Haemost* 2020; 120(4):638—646. DOI: 10.1055/S-0040-1702225.
24. Gavrilaki E, Chrysanthopoulou A, Sakellari I et al. Linking complement activation, coagulation, and neutrophils in transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Thromb Haemost* 2019; 119(9):1433—1440. DOI: 10.1055/S-0039-1692721.
25. Rotz SJ, Luebbering N, Dixon BP et al. In vitro evidence of complement activation in transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood Adv* 2017; 1(20):1632—1634. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017008250.
26. Jodele S, Zhang K, Zou F et al. The genetic fingerprint of susceptibility for transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Blood* 2016; 127(8):989—996. DOI: 10.1182/blood-2015-08-663435.
27. Laskin BL, Maisel J, Goebel J et al. Renal arteriolar C4d deposition: a novel characteristic of hematopoietic stem cell transplantation—associated thrombotic microangiopathy. *Transplantation* 2013; 96(2):217—223. DOI: 10.1097/TP.0b013e31829807aa.
28. Elhadad S, Chapin J, Copertino D et al. MASP2 levels are elevated in thrombotic microangiopathies: association with microvascular endothelial cell injury and suppression by anti-MASP2 antibody narsoplimab. *Clin Exp Immunol* 2021; 203(1):96—104. DOI: 10.1111/CEI.13497.

29. Щекина А. Е., Галстян Г. М., Дроков М. Ю. и др. Интенсивная терапия жизнеугрожающих осложнений при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология* 2022; 67(3): 308—327.
30. Au WY, Ma ES, Lee TL et al. Successful treatment of thrombotic microangiopathy after haematopoietic stem cell transplantation with rituximab. *Br J Haematol* 2007; 137(5):475—478. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06588.x.
31. Goyama S, Takeuchi K, Kanda Y et al. Post-transplant endothelial disorder after hematopoietic SCT: a blinded autopsy study. *Bone Marrow Transpl* 2012; 47(9): 1243—1245. DOI: 10.1038/BMT.2011.243.
32. Ehmann MA, Medinger M, Bodenmann B et al. Histologic features of hematopoietic stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathy are best perceived in deep skin biopsies and renal biopsies, while showing a significant overlap with changes related to severe acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transpl* 2020; 55(9):1847—1850. DOI: 10.1038/S41409-020-0880-Y.
33. Inamoto Y, Ito M, Suzuki R et al. Clinicopathological manifestations and treatment of intestinal transplant-associated microangiopathy. *Bone Marrow Transpl* 2009; 44(1):43—49. DOI: 10.1038/BMT.2008.419.
34. Yamada R, Nemoto T, Ohashi K et al. Distribution of transplantation-associated thrombotic microangiopathy (TA-TMA) and comparison between renal TA-TMA and intestinal TA-TMA: autopsy study. *Biol Blood Marrow Transpl* 2020; 26(1):178—188. DOI: 10.1016/J.BBMT.2019.08.025.
35. Jodele S, Laskin BL, Dandoy CE et al. A new paradigm: Diagnosis and management of HSCT-associated thrombotic microangiopathy as multi-system endothelial injury. *Blood Rev* 2015; 29(3):191—204. DOI: 10.1016/J.BLRE.2014.11.001.
36. Castillo P, Voigt K, Crockett C et al. Purtscher-like retinopathy: A rare presentation of hematopoietic stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Pediatr Transpl* 2019; 23(2):e13344. DOI: 10.1111/PETR.13344.
37. Dandoy CE, Davies SM, Hirsch R et al. Abnormal echocardiography 7 days after stem cell transplantation may be an early indicator of thrombotic microangiopathy. *Biol Blood Marrow Transpl* 2015; 21(1):113—118. DOI: 10.1016/J.BBMT.2014.09.028.
38. George JN, Selby GB. Thrombotic microangiopathy after allogeneic bone marrow transplantation: a pathologic abnormality associated with diverse clinical syndromes. *Bone Marrow Transpl* 2004; 33(11):1073—1074. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704513.
39. Moiseev IS, Morozova EV, Bykova TA et al. Long-term outcomes of ruxolitinib therapy in steroid-refractory graft-versus-host disease in children and adults. *Bone Marrow Transpl* 2020; 55(7):1379—1387. DOI: 10.1038/S41409-020-0834-4.
40. Dandoy CE, Rotz S, Alonso PB et al. A pragmatic multi-institutional approach to understanding transplant-associated thrombotic microangiopathy after stem cell transplant. *Blood Adv* 2021; 5(1):1—11. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003455.

41. Ho VT, Cutler C, Carter S et al. Blood and marrow transplant clinical trials network toxicity committee consensus summary: thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11(8):571—575. DOI: 10.1016/j.bbmt.2005.06.001.
42. Ruutu T, Barosi G, Benjamin RJ et al. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: Results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica* 2007; 92(1):95—100. DOI: 10.3324/haematol.10699.
43. Uderzo C, Missiry ME, Ciceri F et al. Transplant-associated thrombotic microangiopathy (TA-TMA) and consensus based diagnostic and therapeutic recommendations: which TA-TMA patients to treat and when? *J Bone Marrow Res* 2014; 2(3):1000152. DOI: 10.4172/2329-8820.1000152.
44. Jodele S. Complement in pathophysiology and treatment of transplant-associated thrombotic microangiopathies. *Semin Hematol* 2018; 55(3):159—166. DOI: 10.1053/J.seminhematol.2018.04.003.
45. Schoettler ML, Carreras E, Cho B et al. Harmonizing definitions for diagnostic criteria and prognostic assessment of transplantation-associated thrombotic microangiopathy: A report on behalf of the European Society for Blood and Marrow Transplantation, American Society for Transplantation and Cellular Therapy, Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation Group, and Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Transpl Cell Ther* 2023; 29(3): 151—163. DOI: 10.1016/J.JTCT.2022.11.015.
46. Carmona A, Díaz-Ricart M, Palomo M et al. Distinct deleterious effects of cyclosporine and tacrolimus and combined tacrolimus-sirolimus on endothelial cells: protective effect of defibrotide. *Biol Blood Marrow Transpl* 2013; 19(10): 1439—1445. DOI: 10.1016/J.BBMT.2013.07.001.
47. Kanunnikov MM, Rakhmanova ZZ, Levkovsky NV et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Clin Transpl* 2021; 35(2):e14180. DOI: 10.1111/CTR.14180.
48. Li A, Makar RS, Hurwitz S et al. Treatment with or without plasma exchange for patients with acquired thrombotic microangiopathy not associated with severe ADAMTS13 deficiency: a propensity score-matched study. *Transfusion* 2016; 56(8):2069—2077. DOI: 10.1111/trf.13654.
49. Mulay S, Kreuter JD, Bryant SC et al. Outcomes of plasma exchange in patients with transplant-associated thrombotic microangiopathy based on time of presentation since transplant. *J Clin Apher* 2015; 30(3):147—153. DOI: 10.1002/jca.21352.
50. Laskin BL, Goebel J, Davies SM et al. Small vessels, big trouble in the kidneys and beyond: hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood* 2011; 118(6):1452—1462. DOI: 10.1182/blood-2011-02-321315.
51. Yang LP, Zhao P, Wu YJ et al. Treatment outcome and efficacy of therapeutic plasma exchange for transplant-associated thrombotic microangiopathy in a large real-world cohort study. *Bone Marrow Transpl* 2022; 57(4):554—561. DOI: 10.1038/S41409-022-01581-1.

52. Sevindik ÖG, Alacacioğlu İ, Katgi A et al. Renal and neurological response with eculizumab in a patient with transplant associated thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation. *Case Rep Hematol* 2015; 2015: 425410. DOI: 10.1155/2015/425410.
53. Fernández C, Lario A, Forés R et al. Eculizumab treatment in a patient with hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy and steroid-refractory acute graft versus host disease. *Hematol Rep* 2015; 7(4): 88—89. DOI: 10.4081/hr.2015.6107.
54. De Fontbrune FS, Galambrun C, Sirvent A et al. Use of eculizumab in patients with allogeneic stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathy: a study from the SFGM-TC. *Transplantation* 2015; 99(9):1953—1959. DOI: 10.1097/tp.0000000000000601.
55. Jodele S, Dandoy CE, Danziger-Isakov L et al. Terminal complement blockade after hematopoietic stem cell transplantation is safe without meningococcal vaccination. *Biol Blood Marrow Transpl* 2016; 22(7):1337—1340. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.03.032.
56. Bohl SR, Kuchenbauer F, Von Harsdorf S et al. Thrombotic microangiopathy after allogeneic stem cell transplantation: a comparison of eculizumab therapy and conventional therapy. *Biol Blood Marrow Transpl* 2017; 23(12):2172—2177. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.08.019.
57. Khaled SK, Claes K, Goh YT et al. Narsoplimab, a mannan-binding lectin-associated serine protease-2 inhibitor, for the treatment of adult hematopoietic stem-cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *J Clin Oncol* 2022; 40(22):2447—2457. DOI: 10.1200/JCO.21.02389.
58. Eculizumab to treat thrombotic microangiopathy/atypical hemolytic uremic syndrome-associated multiple organ dysfunction syndrome in hematopoietic stem cell transplant recipients. URL: mgend.ncgm.go.jp/clinical-trials/info/NCT03518203.
59. Ravulizumab in thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplant. URL: classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04543591.
60. Study of ravulizumab in pediatric participants with HSCT-TMA. URL: cancer.gov/research/participate/clinical-trials/intervention/ravulizumab.
61. Nomacopan (rVA576) in transplant associated thrombotic microangiopathy. URL: classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04784455.
62. Safety and efficacy study of OMS721 in patients with thrombotic microangiopathies. URL: mayo.edu/research/clinical-trials/clc-20192063.
63. Dalle JH, Giralt SA. Hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation: risk factors and stratification, prophylaxis, and treatment. *Biol Blood Marrow Transpl* 2016; 22(3):400—409. DOI: 10.1016/J.BBMT.2015.09.024.
64. Fan CQ, Crawford JM. Sinusoidal obstruction syndrome (hepatic veno-occlusive disease). *J Clin Exp Hepatol* 2014; 4(4):332—346. DOI: 10.1016/J.JCEH.2014.10.002.
65. Mohty M, Malard F, Alaskar AS et al. Diagnosis and severity criteria for sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease in adult patients: a refined classification from the European society for blood and marrow transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transpl* 2023; 58(7):749—754. DOI: 10.1038/S41409-023-01992-8.

66. Coppel JA, Richardson PG, Soiffer R et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transpl* 2010; 16(2):157–168. DOI: 10.1016/J.bbmt.2009.08.024.
67. Carreras E, Diaz-Ricart M. The role of the endothelium in the short-term complications of hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46(12):1495–1502. DOI: 10.1038/bmt.2011.65.
68. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N (editors). *EBMT handbook*. 7th edition. Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. Cham (CH): Springer; 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5.
69. Mohty M, Malard F, Abecassis M et al. Sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease: current situation and perspectives — a position statement from the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(6):781–789. DOI: 10.1038/bmt.2015.52.
70. Mohty M, Malard F, Abecassis M et al. Revised diagnosis and severity criteria for sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease in adult patients: a new classification from the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transpl* 2016; 51(7):906–912. DOI: 10.1038/bmt.2016.130.
71. Kis B, Pamarthi V, Fan CM et al. Safety and utility of transjugular liver biopsy in hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Vasc Interv Radiol* 2013; 24(1): 85–89. DOI: 10.1016/j.jvir.2012.09.011.
72. Dignan FL, Wynn RF, Hadzic N et al. BCSH/BSBMT guideline: diagnosis and management of veno-occlusive disease (sinusoidal obstruction syndrome) following haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2013; 163(4): 444–457. DOI: 10.1111/bjh.12558.
73. Zhang Y, Yan Y, Song B. Noninvasive imaging diagnosis of sinusoidal obstruction syndrome: a pictorial review. *Insights Imaging* 2019; 10(1):110. DOI: 10.1186/S13244-019-0791-X.
74. Grupp SA, Corbacioglu S, Kang HJ et al. A phase 3, randomized, adaptive study of defibrotide (DF) vs best supportive care (BSC) for the prevention of hepatic veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome (VOD/SOS) in patients (pts) undergoing hematopoietic cell transplantation (HCT): preliminary results. *Blood* 2021; 138(Suppl 1):749. DOI: 10.1182/blood-2021-147284.
75. Corbacioglu S, Cesaro S, Faraci M et al. Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in paediatric haemopoietic stem-cell transplantation: an open-label, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 379(9823): 1301–1309. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61938-7.
76. Mohty M, Malard F, Abecassis M et al. Prophylactic, preemptive, and curative treatment for sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease in adult patients: a position statement from an international expert group. *Bone Marrow Transpl* 2020; 55(3):485–495. DOI: 10.1038/S41409-019-0705-Z.
77. Lengliné E, Chevret S, Moreau AS et al. Changes in intensive care for allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transpl* 2015; 50(6):840–845. DOI: 10.1038/bmt.2015.55.
78. Debureaux PE, Darmon M, Bige N et al. Sinusoidal obstruction syndrome in critically ill patients in the era of defibrotide: a retrospective multicenter study.

- Transpl Cell Ther 2021; 27(4):338.e1—338.e7. DOI: 10.1016/J.JTCT.2020.11.016.
79. Elbahlawan L, Morrison R, Li Y et al. Outcome of acute respiratory failure secondary to engraftment in children after hematopoietic stem cell transplant. *Front Oncol* 2020; 10:584269. DOI: 10.3389/FONC.2020.584269.
 80. Fornwalt RA, Brigham EP, Scott Stephens R. Critical care of hematopoietic stem cell transplant patients. *Crit Care Clin* 2021; 37(1):29—46. DOI: 10.1016/J.CCCC.2020.08.002.
 81. Cornell RF, Hari P, Zhang MJ et al. Divergent effects of novel immunomodulatory agents and cyclophosphamide on the risk of engraftment syndrome after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19(9):1368—1373. DOI: 10.1016/J.BBMT.2013.06.017.
 82. Spitzer TR. Engraftment syndrome: double-edged sword of hematopoietic cell transplants. *Bone Marrow Transpl* 2015; 50(4):469—475. DOI: 10.1038/bmt.2014.296.
 83. Tang J, Ferrer Marrero TM, Jerkins J et al. A case of engraftment syndrome in the medical intensive care unit. *Case Rep Intern Med* 2018; 5(1):21. DOI: 10.5430/CRIM.V5N1P21.
 84. Gorak E, Geller N, Srinivasan R et al. Engraftment syndrome after nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence and effects on survival. *Biol Blood Marrow Transpl* 2005; 11(7):542—550. DOI: 10.1016/j.bbmt.2005.04.009.
 85. Schmid I, Stachel D, Pagel P et al. Incidence, predisposing factors, and outcome of engraftment syndrome in pediatric allogeneic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transpl* 2008; 14(4):438—444. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.02.002.
 86. Spitzer TR. Engraftment syndrome following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transpl* 2001; 27(9):893—898. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703015.
 87. Maiolino A, Biasoli I, Lima J et al. Engraftment syndrome following autologous hematopoietic stem cell transplantation: definition of diagnostic criteria. *Bone Marrow Transpl* 2003; 31(5):393—397. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703855.
 88. Cornell RF, Hari P, Drobyski WR. Engraftment syndrome after autologous stem cell transplantation: an update unifying the definition and management approach. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(12):2061—2068. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.08.030.
 89. Lucchini G, Willasch AM, Daniel J et al. Epidemiology, risk factors, and prognosis of capillary leak syndrome in pediatric recipients of stem cell transplants: a retrospective single-center cohort study. *Pediatr Transplant* 2016; 20(8):1132—1136. DOI: 10.1111/petr.12831.
 90. Nürnberger W, Willers R, Burdach S et al. Risk factors for capillary leakage syndrome after bone marrow transplantation. *Ann Hematol* 1997; 74(5):221—224. DOI: 10.1007/S002770050288.

Г. М. Галстян, А. Е. Щекина, В. А. Васильева, И. Э. Костина,
Е. Н. Паровичникова

Глава 35.

Особенности поражения легких при трансплантации гемопозитических стволовых клеток

Общие сведения

Легочные осложнения — одни из наиболее частых осложнений после трансплантации гемопозитических стволовых клеток (ТГСК). Они регистрируются у 25—50% реципиентов гемопозитических стволовых клеток (ГСК) [1]. Частота возникновения и значение этих осложнений меньше при трансплантации аутологичных ГСК (ауто-ТГСК), чем аллогенных ГСК (алло-ТГСК), поскольку после ауто-ТГСК, в отличие от алло-ТГСК, не развивается реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и значительно меньше иммуносупрессия, однако иммунокомпрометированный статус пациента вследствие заболевания, по поводу которого выполняется ауто-ТГСК (например, множественная миелома), предшествующее лечение, режимы кондиционирования и период цитопении после ауто-ТГСК также способствуют развитию легочных осложнений в посттрансплантационном периоде. В зависимости от этиологии посттрансплантационные легочные осложнения делятся на инфекционные и неинфекционные (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1. Инфекционные и неинфекционные поражения легких при ТГСК

Этапы трансплантации	Причина	Легочные осложнения
Кондиционирование и ранняя фаза до приживления (от 0-го до +30-го дня)	Кондиционирование. Нейтропения	Неинфекционные: - волемическая перегрузка; - синдром приживления; - повреждения легких, вызванные химиотерапией; - повреждения легких вследствие облучения; - синдром идиопатической интерстициальной пневмонии; - диффузные альвеолярные кровоизлияния; - острое посттрансфузионное повреждение легких; - синдром высвобождения цитокинов после трансфузии ГСК. Инфекционные: - бактериальные пневмонии; - легочный аспергиллез; - вирусные пневмонии
Ранняя фаза после приживления (дни от +31-го до +100-го)	Нарушения клеточного и гуморального иммунитета	Инфекционные: - бактериальные пневмонии; - легочный аспергиллез; - вирусные пневмонии; - пневмоцистная пневмония. Неинфекционные: - идиопатическая интерстициальная пневмония; - диффузные альвеолярные кровоизлияния
Поздняя фаза после приживления (> +100 дней)	Отсроченное иммунное восстановление. Иммуносупрессия. Хроническая РТПХ	Неинфекционные: - облитерирующий бронхиолит. Инфекционные: - бактериальные пневмонии; - легочный аспергиллез; - вирусные пневмонии; - пневмоцистная пневмония; - ПТЛПЗ, ассоциированное с ВЭБ
ПТЛПЗ, ассоциированное с ВЭБ, — посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание, ассоциированное с инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна—Барр.		

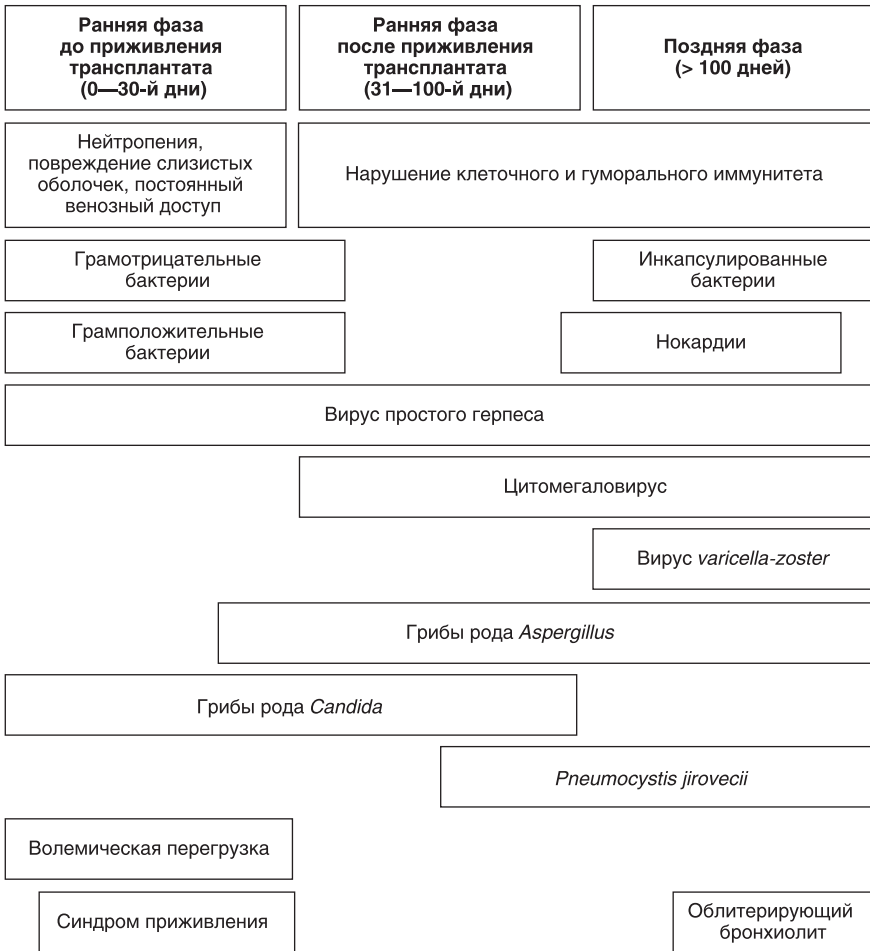


Рисунок 1. Поражения легких на различных этапах ТГСК.

Легочные осложнения в период кондиционирования и в ранней фазе до приживления

Поражения легких у реципиентов алло-ГСК в период кондиционирования и в раннюю фазу иммунной реконституции до приживления носят неинфекционный и инфекционный характер и могут быть обусловлены токсичностью препаратов [2], повреждением слизистых оболочек, развитием цитопении, инфекционными осложнениями [3].

Неинфекционные легочные осложнения

Кардиогенный или некардиогенный отек легких развивается в течение первых 30 дней после ТГСК и может быть следствием волемической перегрузки, пневмонии, синдрома приживления, синдрома капиллярной утечки, предшествующих заболеваний сердца, синдрома синусоидальной обструкции печени (веноокклюзионной болезни печени), приводящих к задержке жидкости. Факторами риска отека легких в этом периоде являются применение циклофосфида, облучение грудной клетки, сердечная недостаточность в анамнезе, применение кардиотоксичных антрациклинов (идарубицина, доксирубицина, даунорубицина).

Синдром приживления трансплантата относится к неинфекционным осложнениям ТГСК, возникает в раннем посттрансплантационном периоде (4—7 дней перед или после восстановления гранулоцитов) и способен осложниться острой дыхательной недостаточностью [4]. В его основе лежит восстановление миелопоэза, которое опережает восстановление регуляторных Т-клеток, что приводит к неконтролируемой активации нейтрофилов и высвобождению провоспалительных цитокинов [3]. Проявляется лихорадкой, макулопапулезной сыпью на коже, капиллярной утечкой, задержкой жидкости, некардиогенным отеком легких и органной дисфункцией [5]. Он имеет схожие симптомы с инфекцией, острой РТПХ, лекарственной токсичностью. Отсутствие патогномоничных критериев диагноза [6] приводит к большому разбросу частоты выявления этого синдрома (10—48%) [7, 8]. В среднем частота встречаемости тяжелого синдрома приживления составляет 2,3% [4].

В пользу синдрома приживления свидетельствуют отсутствие доказанной инфекции, гистологических признаков острой РТПХ, регресс клинических проявлений без лечения или после кратковременного лечения глюкокортикоидными гормонами в дозе не менее 2 мг/кг/сут в течение 3—5 дней, во многих случаях требуется проведение ИВЛ [5]. Детально информация о «синдроме приживления» изложена в соответствующей главе.

Диффузные альвеолярные кровоизлияния — жизнеугрожающее осложнение ТГСК. Проявляется интраальвеолярными кровоизлияниями из-за повреждения эндотелия, вызванного режимом кондиционирования. Встречается в 2% случаев ТГСК, может ассоциироваться с синдромом приживления, характеризуется высокой летальностью [9]. Факторы риска точно не известны, часто ассоциируется с тяжелым мукозитом, почечной недостаточностью, может возникать при ауто-ТГСК, у лиц, подвергшихся тотальному облучению тела, а также у больных с коагуло-

пацией. Клинически проявляется быстро прогрессирующей одышкой, кашлем, гипоксемией; кровахарканье не является обязательным симптомом. При компьютерной томографии (КТ) выявляют диффузные билатеральные инфильтраты, консолидацию легочной ткани, картину «матового стекла» (рис. 2).

В жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) не выявляют микроорганизмов, она обычно окрашена кровью, в ней много ($\geq 20\%$) нагруженных железом макрофагов. Обнаружение интактных свободных эритроцитов в жидкости БАЛ не свидетельствует о легочном кровотечении или легочном гемосидерозе, поскольку может быть обусловлено травмой при бронхоскопии. В пользу легочных геморрагий свидетельствуют нагруженные гемосидерином макрофаги, появляющиеся в течение 48 часов после кровотечения. Диагноз подтверждается при исследовании жидкости БАЛ, в котором гемосидериновый показатель превышает 100. Лечится глюкокортикоидными гормонами в высоких дозах (500—1000 мг/сут в течение 3 дней). Пациенты нередко нуждаются в проведении ИВЛ, коррекции коагулопатии.



Рисунок 2. КТ при диффузных альвеолярных кровоизлияниях. Видны (стрелки) двухсторонние инфильтраты плотностью интенсивного «матового стекла» с воздушной бронхограммой на их фоне.

Инфекционные осложнения

В этот период наиболее высок риск развития легочной инфекции, вызванной аэробными грамположительными бактериями и грамотрицательными бактериями. Наиболее частыми возбудителями являются *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella* spp. В этот период бактериальную пневмонию могут вызывать условно-патогенные бактерии, в частности *Legionella* spp. Факторами риска являются нейтропения, гипогаммаглобулинемия, тяжелый мукозит. Клинические проявления неспецифичны, включают в себя лихорадку, однако последней может и не быть, если пациент получает глюкокортикоиды, может быть кашель, одышка, гипоксемия. Поскольку в этом периоде у пациентов, как правило, сохраняется нейтропения, такие признаки, как лейкоцитоз, сдвиг в лейкоцитарной формуле влево, могут отсутствовать. Диагноз пневмонии подтверждается при КТ легких, которая более информа-

тивна, чем рентгенография. Исследование жидкости БАЛ позволяет верифицировать возбудителя и назначить соответствующую антибактериальную терапию.

Инвазивный легочный аспергиллез

Аспергиллез — ведущая причина инвазивных грибковых поражений легких у реципиентов ГСК. Медиана времени возникновения пневмоний, вызванных плесневыми грибами, составила 44 дня [10]. Факторами риска развития легочного аспергиллеза являются алло-ТГСК, длительная иммуносупрессия (в частности, глюкокортикоидами), РТПХ, несовместимость по HLA, тотальное облучение всего тела при кондиционировании, наличие в анамнезе грибковых инфекций [11]. Риск аспергиллеза повышается при нейтропении каждый день на 1% в течение первых 3 недель, затем при продолжающейся нейтропении — каждый день на 4%. Периодом наибольшего риска присоединения инфекции является нейтропения длительностью более 20 дней [12]. Клинически проявляется классической триадой: лихорадка, плевральные боли, кровохарканье, хотя не все компоненты этой триады могут присутствовать. Может развиваться гипоксемия. Заподозрить аспергиллез легких позволяет КТ, на которой выявляют участки легочной консолидации, зоны «матового стекла», симптом ореола (симптом гало) — снижение пневматизации по типу «матового стекла» вокруг очага уплотнения легочной ткани, признак «воздушного полумесяца» или симптом «серпа» — воздушная прослойка серповидной формы, окружающая мягкотканый компонент патологической полости (рис. 3).

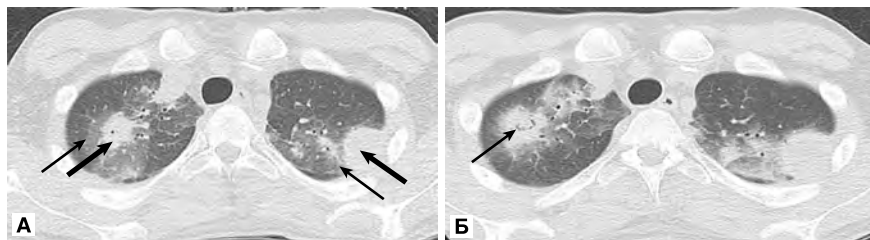


Рисунок 3. КТ при инвазивном легочном аспергиллезе. А. Очаги в верхних отделах обоих легких (стрелки) с симптомом «ореола» (тонкие стрелки). Б. Контрольная КТ через 7 дней. В толще очага в верхней доле правого легкого появилась серповидной формы воздушная полоска (симптом серпа) (стрелка).

Симптом ореола неспецифичен и может выявляться и при других инвазивных микозах (фузариоз, мукор и др.). Уже выявление типичной рентгенологической картины является поводом для назначения

эмпирической терапии аспергиллеза. Для подтверждения диагноза исследуется галактоманнан сыворотки (положительный тест — $> 0,5$). Тест на галактоманнан сыворотки может быть ложноположительным, если пациент получает бета-лактамы антибиотики, в частности пиперацillin/тазобактам. Исследование галактоманнана в жидкости БАЛ (положительный тест — > 1) обладает большей чувствительностью, чем галактоманнан в сыворотке [13]. При исследовании жидкости БАЛ возможно проведение флуоресцентной микроскопии мицелиальных грибов и определение роста *Aspergillus* spp. в жидкости БАЛ. Исследование β -D-глюкана менее чувствительно и имеет ограниченную значимость в диагностике аспергиллеза. Подтвердить диагноз можно при биопсии легкого, но эта процедура выполнима не у всех пациентов.

Проводят как первичную, так и вторичную противогрибковую профилактику. Если в анамнезе у пациентов не было инвазивного микоза, профилактику пациентам после алло-ТГСК проводят флуконазолом или эхинокандинами с постоянным мониторингом концентрации галактоманнана в сыворотке в период нейтропении. Вторичная профилактика показана пациентам с ранее диагностированным инвазивным аспергиллезом. Ее проводят вориконазолом, позаконазолом, изавуконазолом. Для лечения аспергиллеза препаратом выбора является вориконазол. Пациентам, которые не переносят вориконазол или имеют противопоказания к его назначению (например, синдром удлиненного QT), или при устойчивости аспергилл к вориконазолу назначают липосомальные формы амфотерицина В, изавуконазол [14].

Зигомикоз

Зигомицеты, включая *Mucor* spp. и *Rhizopus* spp., встречаются у 1,9% пациентов после алло-ТГСК, причем заболеваемость зигомикозом увеличивается в связи с проводимой профилактикой вориконазолом [15]. Клинические проявления неспецифичны, как и при других грибковых пневмониях, включают лихорадку, которая не отвечает на терапию антибиотиками широкого спектра действия. Нет биомаркеров, подтверждающих зигомикоз. КТ-картина напоминает аспергиллез, но имеет свои характерные признаки в виде симптома обратного ореола, представляющего собой очаг плотностью «матового стекла», окруженный более или менее полным кольцом консолидации (рис. 4).

При подозрении на зигомикоз рекомендуется обязательно выполнить БАЛ. Лечение — липосомальные формы амфотерицина В, позаконазол, изавуконазол.

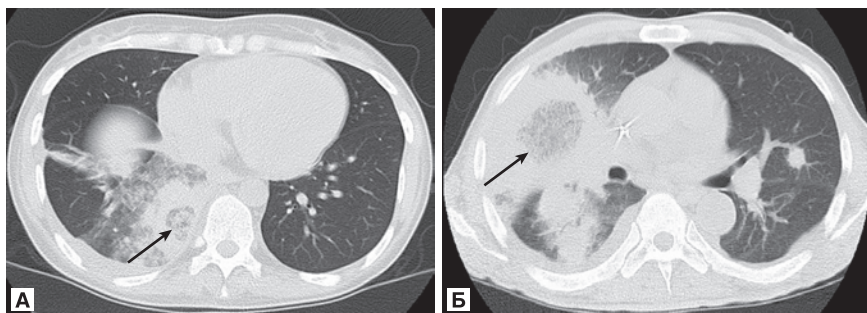


Рисунок 4. КТ-картина при зигомикозе. А. Очаг в нижней доле правого легкого плотностью «матового стекла», окруженный практически полным кольцом консолидации, — симптом «обратного ореола» (стрелка). Б. Множественные очаги в обоих легких. Наиболее крупный очаг в средней доле правого легкого с симптомом «обратного ореола» (стрелка).

Легочные осложнения в ранней фазе после приживления

В посттрансплантационном периоде, в ранней фазе после приживления (31—100-й дни после ТГСК) на развитие критических состояний наряду с инфекцией влияние оказывают осложнения, обусловленные аллоиммунной реакцией и повреждением эндотелия [16]. К ним относят острую РТПХ и синдромы эндотелиального повреждения [17], которые влияют на летальность, связанную с трансплантацией [18]. В этот период резко возрастает частота идиопатической интерстициальной пневмонии и криптогенной организирующей пневмонии. Развитие угрожающих жизни осложнений вследствие РТПХ может быть опосредовано прямым повреждением тканей, оппортунистическими инфекциями, иммуносупрессией, токсичностью препаратов, применяемых для контроля РТПХ, и любым осложнением, которое может возникнуть у ослабленного больного [19]. У пациентов может сохраняться цитопения, развиваться гипофункция и несостоятельность трансплантата [20, 21]. Риск тяжелой инфекции в этот период остается высоким, хотя структура возбудителей меняется [22]: увеличивается частота грамотрицательных инфекций, в том числе вызванных резистентными возбудителями [23], грибковых и вирусных инфекций [22].

Синдром идиопатической интерстициальной пневмонии (СИИП) — неинфекционный воспалительный процесс, не имеющий четкой этиологии, устанавливается на основании исключения инфекционной

причины. Клинически напоминает инфекционную пневмонию, однако не отвечает на антибактериальную терапию. Обычно развивается в течение первых 120 дней после ТГСК, медиана времени начала этого осложнения 42—58 дней. Частота — 5—25% [24]. Отмечается высокая летальность, достигающая 50—70% [24].

В патогенезе этого осложнения играет роль режим кондиционирования, который ведет к повреждению легочного эпителия, рекруитменту макрофагов и Т-клеток в участках этого повреждения. Имеют значение предшествующие трансплантации заболевания легких, а также РТПХ и проводимая иммуносупрессия. Факторами риска развития СИИП являются острый лейкоз или миелодиспластический синдром, миелоаблативный режим кондиционирования, цитомегаловирусная инфекция [24]. По данным Schlemmer et al. [25], внелегочная форма хронической РТПХ была зарегистрирована при диагностике СИИП у 70% пациентов.

Клинически СИИП проявляется непродуктивным кашлем, лихорадкой, одышкой, гипоксемией. При КТ выявляется билатерально симптом «матового стекла», участки консолидации, отек легких. А по данным функции внешнего дыхания отмечаются рестриктивные нарушения (рис. 5).

Диагноз устанавливают на основании клинической и рентгенологической картины при исключении инфекционной природы поражения легких. С диагностической целью выполняют БАЛ, в ряде случаев — биопсию легкого [24].

После исключения инфекционной этиологии поражения легких лечение проводят глюкокортикоидами.

Криптогенная организуемая пневмония (КОП), называемая ранее «облитерирующий бронхиолит с организуемой пневмонией», — это подострое или хроническое поражение дыхательных путей, патоморфологически проявляющееся разрастанием грануляционной ткани в просветах бронхиол, альвеолярных ходах и альвеолах, ассоциированное с инфильтрацией интерстиция и альвеол мононуклеарными клетками и макрофагами. В отличие от синдрома облитерирующего бронхиолита (СОБ), для этой формы поражения легких не характерен фиброз или



Рисунок 5. Тотальная инфильтрация легочной ткани плотностью «матового стекла» с участком консолидации в задних отделах S6 левого легкого (стрелка).

деформации бронхиальной стенки. После ТГСК КОП возникает через 3 месяца (диапазон 3—14 месяцев). Причина развития КОП неясна. Факторы риска — хроническая РТПХ, трансплантация от неродственного донора, гаплоидентичного донора, применение такролимуса для профилактики РТПХ. Клинически КОП проявляется лихорадкой, одышкой и непродуктивным кашлем, не реагирующим на антимикробное лечение. При исследовании функции внешнего дыхания Freudenberger et al. [26] обнаружили нормальную функцию легких у 38% пациентов, тогда как у 43% наблюдались рестриктивные нарушения, у 11% — обструктивные вентиляционные нарушения, а у 8% — те и другие. Кроме того, у 64% больных отмечено снижение диффузионной способности легких [26]. При КТ легких обнаруживают участки уплотнения по типу «матового стекла», располагающиеся субплеврально и перибронховаскулярно, базальные уплотнения воздухосодержащих пространств, утолщения стенок бронхов и цилиндрическое расширение бронхов (рис. 6).

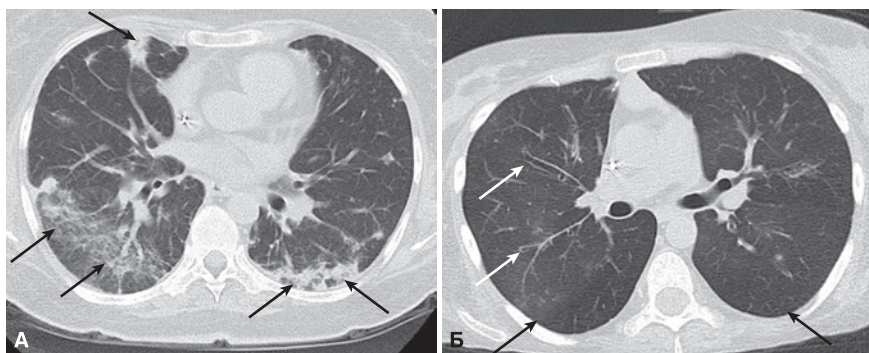


Рисунок 6. КТ-картина при КОП. А. Видны полиморфные участки уплотнения легочной ткани в периферических и субплевральных отделах обоих легких, плотностью от «матового стекла» до консолидации (стрелки). Б. Утолщение стенок сегментарных и субсегментарных бронхов с расширением их просветов (белые стрелки). Мозаичная картина легочной ткани за счет наличия участков вздутия — «воздушные ловушки» (черные стрелки).

Дифференциальный диагноз между СОБ и КОП представлен в табл. 2.

Лечение включает назначение пероральных и ингаляционных глюкокортикоидных гормонов. Как правило, на терапию ответ достигается почти у 80% пациентов [27].

Таблица 2. Дифференциальный диагноз между СОБ и КОП

Показатель	СОБ	КОП
Первые симптомы	В большинстве случаев после +100-го дня	В первые 100 дней после ТГСК
Частота встречаемости	3—10% реципиентов ГСК	До 10% при ТГСК от неродственных доноров
Клиническая взаимосвязь	Алло-ТГСК с хронической РТПХ	Ауто- или алло-ТГСК. Почти всегда предшествует респираторная инфекция
Симптомы, признаки	Бессимптомная или прогрессирующая одышка, сухой кашель, свистящее дыхание. Лихорадки нет, нормальный анализ крови	Лихорадка, сухой кашель. Лейкоцитоз, повышение сывороточной концентрации СРБ
Этиология	Хроническая РТПХ	Идиопатическая либо вызвана инфекцией или лекарственными средствами
Аускультативные проявления	Свистящее дыхание, гиповентиляция	Хрипы
ФВД	Фиксированные обструктивные изменения: снижение ОФВ1 > 10%, ОФВ1/ЖЕЛ < НГН. Повышенные ООЛ или ООЛ/ОЕЛ. ОФВ1/ФЖЕЛ > НГН и сохраненная ОЕЛ могут быть. ДСЛ может быть нормальной или сниженной	Наиболее распространены рестриктивные нарушения со сниженной ОЕЛ с ОФВ1/ФЖЕЛ > НГН. Могут наблюдаться обструктивные или смешанные изменения. ДСЛ снижена
Рентгенография грудной клетки	Нормальная рентгенологическая картина или признаки избыточной воздушности	Изменения в виде альвеолярного или интерстициального рисунка
КТ грудной клетки	Утолщение бронхиальных стенок, бронхоэктазы, воздушные ловушки на экспираторных проекциях	Одно- или двусторонние тяжистые сращения, помутнения по типу «матового стекла» или нодулярные инфильтраты
Биопсия легкого	В сомнительных случаях или в соответствии с критериями, когда легкие единственный орган-мишень хронической РТПХ	Рекомендована для установления диагноза
Ответ на терапию глюкокортикоидами	Ограничен	Ответ в более 80% случаев
Прогноз	Выживаемость < 20% через 5 лет, если нет ответа на глюкокортикоиды	Потенциально обратимо

ДСЛ — диффузионная способность легких; НГН — нижняя граница нормы; ОЕЛ — общая емкость легких; ООЛ — остаточный объем легких; ОФВ1 — объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ФВД — функция внешнего дыхания; ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких.

Легочные осложнения в поздней фазе после приживления

Большинство легочных осложнений в поздней фазе после приживления (> 100 дней после ТГСК), как неинфекционного, так и инфекционного генеза, являются следствием хронической РТПХ и ее лечения. Они включают облитерирующий бронхиолит, посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание (ПТЛПЗ), ассоциированное с инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна—Барр (ВЭБ), пневмонии, вызванные инкапсулированными бактериями (пневмококками), аспергиллез, вирусные пневмонии.

Редкие поражения легких

Кроме того, в поздние сроки после алло-ТГСК возможно развитие таких редких поражений легких, как диффузное альвеолярное повреждение, эозинофильная пневмония, острая фибринозная организующаяся пневмония [25, 49—51].

Неинфекционные легочные осложнения

Синдром облитерирующего бронхиолита (СОБ) — позднее легочное осложнение, которое регистрируют спустя 12 месяцев (диапазон 6—24 месяца) после ТГСК у 3—10% реципиентов [28—30]. СОБ является единственным официально признанным клиническим проявлением хронической РТПХ легких, основывается на проведении исследования функции легких и может быть подтвержден гистологическим исследованием [31—33]. В основе этого осложнения лежат перибронхиоларный фиброз и облитерация мелких воздухоносных путей, приводящие к обструктивному нарушению дыхания [34]. Факторами риска его развития являются трансплантация от несовместимого по HLA донора, хроническая РТПХ, режимы кондиционирования, содержащие бусульфан, источник ГСК — периферическая кровь, вирусная инфекция, предшествующие легочные заболевания, трансплантация от донора, несовместимого с реципиентом по системе АВ0 [35]. СОБ может сопровождаться синдромом утечки воздуха, при котором происходит разрыв перераздутых альвеол, и проникновением воздуха в межальвеоларные пространства и клетчатку внутренних органов, формированием спонтанных пневмомедиастинума, пневмоперикарда, подкожной эмфиземы, пневмоторакса (рис. 7, 8) [36, 37].

В ряде случаев может развиваться гиперкапническая дыхательная недостаточность [38]. На сегодняшний день функция внешнего дыхания является эталоном диагностики СОБ. Выявляют обструктивные вентиляцион-

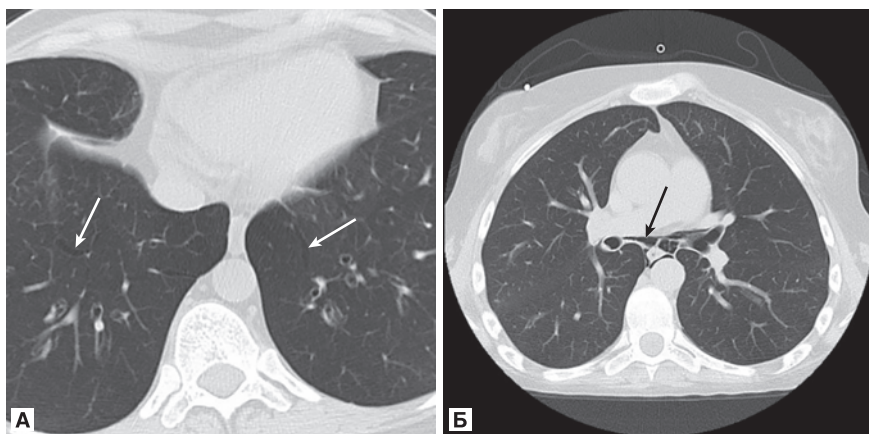
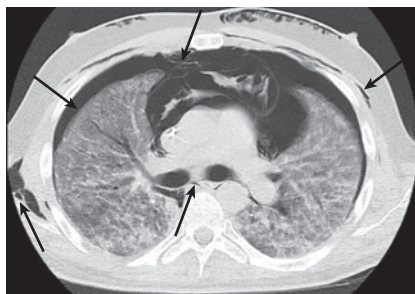


Рисунок 7. КТ при облитерирующем бронхиолите. А. Синдром утечки воздуха, легочная интерстициальная эмфизема вследствие разрыва альвеол (стрелки). Б. Синдром утечки воздуха, спонтанный пневмомедиастинум (стрелка).

Рисунок 8. КТ-картина при СОБ: синдром «утечки воздуха», спонтанный двухсторонний пневмоторакс, пневмомедиастинум, подкожная и межмышечная эмфизема (стрелки).



ные нарушения — уменьшение отношения объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ1). Ряд исследователей рекомендуют мониторинг спирометрии, а также учитывать траекторию изменения ОФВ1, а не абсолютное значение в конкретный момент времени [29, 39]. При функциональной КТ, выполненной на вдохе и выдохе, находят участки «воздушных ловушек», распространенность которых может быть различной (рис. 9—11).

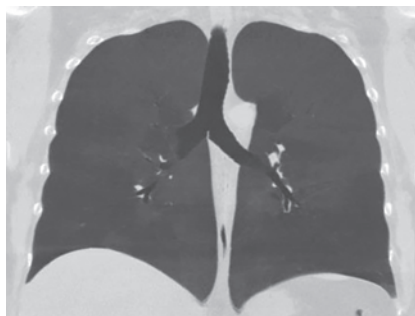


Рисунок 9. КТ легких в коронарной проекции в режиме минимальной интенсивности (MinIP), выполненная на глубоком вдохе.

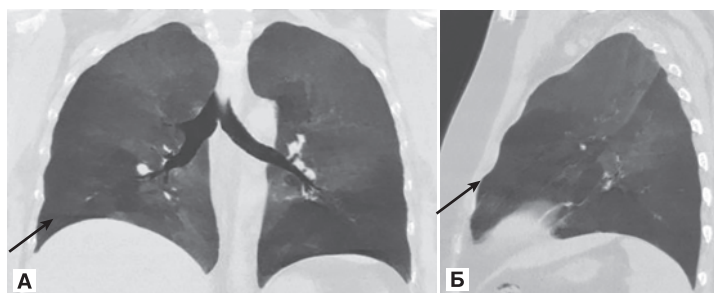


Рисунок 10. КТ легких в коронарной (А) и сагиттальной (Б) проекциях в режиме минимальной интенсивности (MiniIP), выполненная на выдохе. В средних и нижних отделах обоих легких определяются обширные участки вздутия легочной ткани — воздушные ловушки (стрелки).

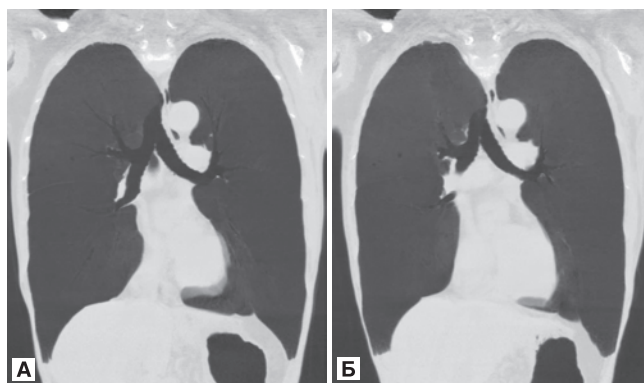


Рисунок 11. КТ легких в коронарной проекции в режиме минимальной интенсивности (MiniIP), выполненная на вдохе (А) и выдохе (Б) Тотальное вздутие легочной ткани.

Если СОБ является единственным клиническим проявлением у пациента без предварительного установленного диагноза хронической РТПХ, требуется биопсия легкого для установления диагноза хронической РТПХ легких.

СОБ протекает тяжело, прогноз при нем неблагоприятный: пятилетняя общая выживаемость составляет 13% [40]. Сочетание системных глюкокортикоидов с ингаляционными (флутиказон), азитромицином и монтелукастом (терапия по схеме FAM), а также с бронхолитиком длительного действия (или без него) была признана органоспецифической терапией СОБ [41, 42].

ПТЛПЗ, ассоциированное с инфекцией, вызванной ВЭБ, — это потенциально фатальное осложнение, частота развития которого после

ТГСК варьирует от 0,5% до 17%. В основе патогенеза лежит инфицирование ВЭБ преимущественно В-лимфоцитов через свой рецептор-мишень CD21, что в условиях иммунной дисфункции приводит к развитию ассоциированной с ВЭБ лимфомы. Факторами риска развития ПТЛПЗ являются трансплантация от неродственного донора, несовместимость между донором и реципиентом по системе HLA, РТПХ II—IV степени, обнаружение в крови антигенов цитомегаловируса (ЦМВ) и ВЭБ, а также применение антилимфоцитарного глобулина (АТГ) для профилактики РТПХ, поскольку АТГ приводит к недостаточному подавлению В-клеток, что способствует развитию ПТЛПЗ [43]. Клинические проявления ПТЛПЗ разнообразны и характеризуются длительной лихорадкой, прогрессирующей трехростковой цитопенией, локальной лимфаденопатией, которая может спонтанно разрешиться, гепатитом, появлением легочных инфильтратов, интерстициального пневмонита. Часто клиническая картина напоминает сепсис или РТПХ [43, 44]. Алгоритм лечения ПТЛПЗ включает отмену иммуносупрессивной терапии (что, однако, может привести к прогрессии РТПХ), назначение ритуксимаба, противовирусных препаратов, интерферона альфа. Несмотря на проводимое лечение, летальность при ПТЛПЗ с поражением легких может достигать 92% [43].

Инфекционные легочные осложнения

Инфекционные легочные осложнения включают бактериальные, микобактериальные, вирусные пневмонии (ЦМВ, аденовирус, респираторный синцитиальный вирус), грибковые инфекции, пневмоцистную пневмонию, токсоплазмоз.

Бактериальная и микобактериальная инфекция

Спустя 100 дней после ТГСК поражения легких вызываются часто инкапсулированными бактериями (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*), что обусловлено нарушением клеточного и гуморального иммунитета в первый год после ТГСК. Могут возникать и другие бактериальные инфекции (*Legionella* spp., *Nocardia* spp., *Actinomyces* spp.). Факторы риска: отсроченная иммунная реконституция после ТГСК, гипогаммаглобулинемия, длительная иммуносупрессия, вызванная, в частности, глюкокортикоидами, используемыми для лечения хронической РТПХ.

У перенесших ТГСК в этот период может возникнуть микобактериальная инфекция. Общая частота инфекции, вызванной *Mycobacterium tuberculosis*, в этот период составляет 1—3% [45], однако встречаются и инфекции, вызванные *Mycobacterium avium-intracellulare*, *Mycobacterium haemophilum*. Факторы риска: хроническая РТПХ, возраст старше 45 лет.

Вирусная инфекция

В поздней фазе после приживления повышен риск вирусной инфекции. Этому способствует отсроченная реконституция, адаптивная иммунотерапия. ЦМВ-пневмония редко наблюдается до приживления, но является частым осложнением в поздней фазе после приживления. ЦМВ-пневмония может возникнуть тремя путями: 1) реактивация латентной ЦМВ-инфекции; 2) передача вируса с ГСК от инфицированного

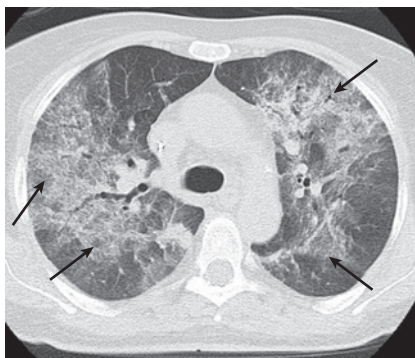


Рисунок 12. КТ-картина ЦМВ-пневмонии, видны двусторонние инфильтраты плотностью «матового стекла» с элементами консолидации (стрелки).

ного донора; 3) заражение вследствие трансфузий компонентов крови [45]. Профилактическая противовирусная терапия может значительно уменьшить частоту ЦМВ-пневмонии. Факторы риска: алло-ТГСК, трансплантация от серонегативного донора серопозитивному реципиенту, длительная иммуносупрессия, в частности вызванная глюкокортикоидами. Клинические проявления ЦМВ-пневмонии неспецифичны (лихорадка, одышка, хрипы, гипоксемия). При КТ — затемнение по типу «матового стекла» (рис. 12) [45].

Диагноз подтверждается выявлением ЦМВ в крови, в жидкости БАЛ методом полимеразной цепной реакции. Препарат выбора — ганцикловир.

Внебольничные респираторные вирусы

Внебольничные респираторные вирусы (ВРВ) (community-acquired respiratory virus — CARV) являются существенной причиной заболеваемости и смертности пациентов после ТГСК. К ним относят респираторный синцитиальный вирус (РСВ), вирус парагриппа человека, риновирус человека, метапневмовирус человека, коронавирус человека [46]. Для установления диагноза заболевания выделяют следующие критерии:

1. Клинические критерии ВРВ:

Появление новых симптомов и как минимум одного из следующих 4 респираторных симптомов и предположение о том, что заболевание вызвано инфекцией:

- кашель;
- боли в горле;

- одышка;
- насморк.

2. Лабораторные критерии ВРВ:

Обнаружение вируса в клиническом образце, одним из следующих методов:

- выделение вируса культурой клеток;
- прямое обнаружение вирусного антигена;
- тестирование амплификации нуклеиновых кислот (необходимо исключить другую этиологию заболевания).

3. Эпидемиологические критерии ВРВ:

- эпидемиологическая связь с передачей от человека к человеку (контакт с посетителем, другим пациентом или медицинским работником).

На основании этих критериев диагноз ВРВ-инфекции может быть:

- возможный, если имеются только клинические критерии;
- вероятный, если имеются клинические + эпидемиологические критерии;
- подтвержденный, если имеются клинические + лабораторные критерии.

Факторы риска заболевания ВРВ-инфекцией: лимфопения $< 0,2 \times 10^9/\text{л}$, пожилой возраст, несовместимый/неродственный донор, алло-ТГСК, нейтропения [46].

Одним из наиболее распространенных является РСВ — чаще поражает верхние дыхательные пути, однако у иммунокомпрометированных пациентов вызывает пневмонию, часто с летальным исходом. Факторами риска развития пневмонии, ассоциированной с РСВ, являются гипогаммаглобулинемия, иммуносупрессивная терапия, хронические заболевания легких в анамнезе, вспышки этой нозокомиальной инфекции в стационаре [47]. Клинические проявления включают в себя лихорадку, хрипы, увеличение работы дыхания, гипоксемию, причем они часто быстро прогрессируют. При КТ — двустороннее поражение по типу «матового стекла». Диагноз устанавливают на основании выявления вируса в жидкости БАЛ, мазках и смывах из носоглотки. Атрибутивная летальность, обусловленная РСВ у пациентов после ТГСК, составила 5,4% [48]. Лечение — прекращение иммуносупрессии, назначение рибавирина (перорально и ингаляционно), внутривенных иммуноглобулинов.

Грибковая легочная инфекция

Прежде всего, плесневые грибы (аспергиллез, зигомикоз). Медиана времени возникновения грибковой инфекции — 100 дней после ТГСК. Факторы риска в этот период — пожилой возраст, наличие и тяжесть РТПХ, глюкокортикоидная терапия, лейкопения.

Пневмоцистная пневмония

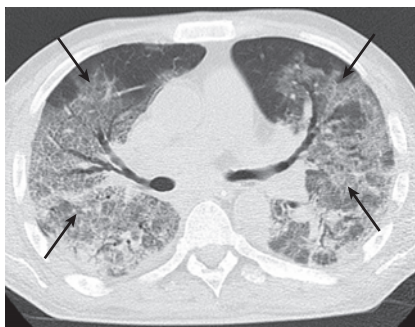


Рисунок 13. КТ при пневмоцистной пневмонии. Видны двусторонние обширные поля инфильтрации плотностью «матового стекла» с полигональными контурами на границе с неповрежденной легочной тканью (стрелки).

Инцидентность в поздней фазе приживления достигает 2%. Факторы риска: алло-ТГСК, глюкокортикоидная терапия РТПХ, факт заболевания пневмоцистной пневмонией (рис. 13) до ТГСК, несоблюдение режима профилактики. Лечение заключается в оксигенотерапии и при необходимости — в респираторной поддержке, назначении триметоприма/сульфаметоксазола в больших дозах (15–20 мг на 1 кг массы тела по триметоприму), глюкокортикоидных гормонов при выраженной гипоксемии, позволяющей уменьшить степень легочного воспаления.

Заключение

Таким образом, поражения легочной ткани при ТГСК разнородны и обусловлены как самим гематологическим заболеванием, так и инфекционными осложнениями, эффектами используемых для лечения препаратов, коагуляционными нарушениями, иммунным повреждением [50]. Для пациентов, которым проводят противоопухолевую терапию, важным является регулярный инфекционный мониторинг, при необходимости частый КТ-контроль, инвазивные методы определения возбудителя (БАЛ, биопсия). Также в большинстве случаев поражения легких носят сочетанный характер, поэтому необходимо учитывать все возможные факторы.

Литература

1. Chi A, Soubani A, White A et al. An update on pulmonary complications of hematopoietic stem cell transplantation. *Chest* 2013; 144(6):1913–1922.
2. Hamadah A, McDiarmid SA, Huebsch LB et al. Management of patients transferred to the ICU during the conditioning phase of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Intensive Care Med* 2009; 35(11):2002–2003. DOI: 10.1007/S00134-009-1583-4.
3. Fornwalt RA, Brigham EP, Scott Stephens R. Critical care of hematopoietic stem cell transplant patients. *Crit Care Clin* 2021; 37(1):29–46. DOI: 10.1016/J.CCC.2020.08.002.

4. Elbahlawan L, Morrison R, Li Y et al. Outcome of acute respiratory failure secondary to engraftment in children after hematopoietic stem cell transplant. *Front Oncol* 2020; 10:584269. DOI: 10.3389/FONC.2020.584269.
5. Spitzer TR. Engraftment syndrome: double-edged sword of hematopoietic cell transplants. *Bone Marrow Transpl* 2015; 50(4):469—475. DOI: 10.1038/bmt.2014.296.
6. Tang J, Ferrer Marrero TM, Jerkins J et al. A case of engraftment syndrome in the medical intensive care unit. *Case Rep Intern Med* 2018; 5(1):21. DOI: 10.5430/CRIM.V5N1P21.
7. Gorak E, Geller N, Srinivasan R et al. Engraftment syndrome after nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence and effects on survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11(7):542—550. DOI: 10.1016/J.BBMT.2005.04.009.
8. Schmid I, Stachel D, Pagel P et al. Incidence, predisposing factors, and outcome of engraftment syndrome in pediatric allogeneic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(4):438—444. DOI: 10.1016/J.BBMT.2008.02.002.
9. Majhail N, Parks K, Defor T et al. Diffuse alveolar hemorrhage and infection-associated alveolar hemorrhage following hematopoietic stem cell transplantation: related and high-risk clinical syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12(10):1038—1046.
10. Aguilar-Guisado M, Jiménez-Jambrina M, Espigado I et al. Pneumonia in allogeneic stem cell transplantation recipients: a multicenter prospective study. *Clin Transplant* 2011; 25(6):E629—E638. DOI: 10.1111/j.1399-0012.2011.01495.x.
11. Shi J, Pei X, Luo Y et al. Invasive fungal infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: single center experiences of 12 years. *J Zhejiang Univ Sci B* 2015; 16(9):796—804.
12. Gerson SSL, Talbot GHG, Hurwitz S et al. Prolonged granulocytopenia: the major risk factor for invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1984; 100(3):345—351. DOI: 10.7326/0003-4819-100-3-345.
13. Sirithanakul K, Salloum A, Klein J et al. Pulmonary complications following hematopoietic stem cell transplantation: diagnostic approaches. *Am J Hematol* 2005; 80(2):137—146.
14. Jenks JD, Salzer HJF, Prattes J et al. Spotlight on isavuconazole in the treatment of invasive aspergillosis and mucormycosis: Design, development, and place in therapy. *Drug Des Devel Ther* 2018; 12:1033—1044. DOI: 10.2147/DDDT.S145545.
15. Kontoyiannis D, Marr K, Park B et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001—2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) database. *Clin Infect Dis* 2010; 50(8):1091—1100.
16. Randolph BV, Ciurea SO. What the intensivist needs to know about hematopoietic stem cell transplantation? In: Nates JL, Price KJ, editors. *Oncologic Critical Care*. Cham: Springer; 2020. P. 1531—1546. DOI: 10.1007/978-3-319-74588-6.

17. Gavrilaki E, Ho VT, Schwaeble W et al. Role of the lectin pathway of complement in hematopoietic stem cell transplantation-associated endothelial injury and thrombotic microangiopathy. *Exp Hematol Oncol* 2021; 10(1):57. DOI: 10.1186/S40164-021-00249-8.
18. Peña M, Salas MQ, Mussetti A et al. Pretransplantation EASIX predicts intensive care unit admission in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood Adv* 2021; 5(17):3418. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021004812.
19. Pichereau C, Lengliné E, Valade S et al. Trajectories of acute graft-versus-host disease and mortality in critically ill allogeneic-hematopoietic stem cell recipients: the Allo-GRRR-OH score. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55(10): 1966—1974. DOI: 10.1038/S41409-020-0857-X.
20. Chen J, Wang H, Zhou J et al. Advances in the understanding of poor graft function following allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Ther Adv Hematol* 2020; 11:2040620720948743. DOI: 10.1177/2040620720948743.
21. Ozdemir Z, Civriz Bozdağ S. Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Apher Sci* 2018; 57(2):163—167. DOI: 10.1016/j.transci.2018.04.014.
22. Wingard JR, Hsu J, Hiemenz JW. Hematopoietic stem cell transplantation: an overview of infection risks and epidemiology. *Infect Dis Clin North Am* 2010; 24(2):257—272. DOI: 10.1016/J.IDC.2010.01.010.
23. Ахмедов М. И., Клясова Г. А., Паровичникова Е. Н. и др. Инфекции кровотока в разные фазы реконституции у больных после первой трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Онкогематология* 2022; 17(1):121—134. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-121-134.
24. Sano H, Kobayashi R, Iguchi A et al. Risk factor analysis of idiopathic pneumonia syndrome after allogeneic hematopoietic SCT in children. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49(1):38—41.
25. Schlemmer F, Chevret S, Lorillon G et al. Late-onset noninfectious interstitial lung disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Respir Med* 2014; 108(10):1525—1533. DOI: 10.1016/J.RMED.2014.09.006.
26. Freudenberger TD, Madtes DK, Curtis JR et al. Association between acute and chronic graft-versus-host disease and bronchiolitis obliterans organizing pneumonia in recipients of hematopoietic stem cell transplants. *Blood* 2003; 102(10): 3822—3828. DOI: 10.1182/BLOOD-2002-06-1813.
27. Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N et al. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48(10): 1317—1323.
28. Кулагин Е. А., Волкова А. Г., Николаев И. Ю. и др. Частота, факторы риска и клиническая характеристика облитерирующего бронхиолита после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Пульмонология* 2022; 32(1):77—88. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-1-77-88.
29. Bergeron A, Chevret S, De Latour RP et al. Noninfectious lung complications after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Eur Respir J* 2018; 51(5):1702617. DOI: 10.1183/13993003.02617-2017.

30. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(3):389—401.e1. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.12.001.
31. Hildebrandt GC, Fazekas T, Lawitschka A et al. Diagnosis and treatment of pulmonary chronic GVHD: report from the consensus conference on clinical practice in chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46(10):1283. DOI: 10.1038/BMT.2011.35.
32. Wolff D, Radojcic V, Lafyatis R et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: IV. The 2020 Highly morbid forms report. *Transplant Cell Ther* 2021; 27(10):817—835. DOI: 10.1016/J.JTCT.2021.06.001.
33. Bondeelle L, Bergeron A. Managing pulmonary complications in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Rev Respir Med* 2019; 13(1): 105—119. DOI: 10.1080/17476348.2019.1557049.
34. Soubani AO, Uberti JP. Bronchiolitis obliterans following haematopoietic stem cell transplantation. *Eur Respir J* 2007; 29(5):1007—1019. DOI: 10.1183/09031936.00052806.
35. Chien J, Duncan S, Williams K et al. Bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation — an increasingly recognized manifestation of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(1 Suppl 1):S106—S114. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.11.002.
36. Moon MH, Sa YJ, Cho KD et al. Thoracic air-leak syndromes in hematopoietic stem cell transplant recipients with graft-versus-host disease: a possible sign for poor response to treatment and poor prognosis. *J Korean Med Sci* 2010; 25(5): 658—662. DOI: 10.3346/JKMS.2010.25.5.658.
37. Khoshbin AP, Aliannejad R. Case 281: Thoracic air leak syndrome in a patient with hematopoietic stem cell transplantation and graft-versus-host disease. *Radiology* 2020; 296(3):710—714. DOI: 10.1148/RADIOL.2020182477.
38. Wohlfarth P, Schellongowski P, Staudinger T et al. A bi-centric experience of extracorporeal carbon dioxide removal (ECCO 2 R) for acute hypercapnic respiratory failure following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Artif Organs* 2021; 45(8):903—910. DOI: 10.1111/AOR.13931.
39. Cheng GS, Storer B, Chien JW et al. Lung function trajectory in bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplant. *Ann Am Thorac Soc* 2016; 13(11):1932—1939. DOI: 10.1513/annalsats.201604-262oc.
40. Dudek AZ, Mahaseth H, DeFor TE et al. Bronchiolitis obliterans in chronic graft-versus-host disease: analysis of risk factors and treatment outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9(10):657—666. DOI: 10.1016/S1083-8791(03)00242-8.
41. Williams KM, Cheng GS, Pusic I et al. Fluticasone, azithromycin, and montelukast treatment for new-onset bronchiolitis obliterans syndrome after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(4): 710—716. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.10.009.

42. Bergeron A, Chevret S, Chagnon K et al. Budesonide/formoterol for bronchiolitis obliterans after hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2015; 191(11):1242—1249. DOI: 10.1164/rccm.201410-1818OC.
43. Hou HA, Yao M, Tang JL et al. Poor outcome in post transplant lymphoproliferative disorder with pulmonary involvement after allogeneic hematopoietic SCT: 13 years' experience in a single institute. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43(4):315—321. DOI: 10.1038/bmt.2008.325.
44. Al Hamed R, Bazarbachi AH, Mohty M. Epstein—Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease (EBV-PTLD) in the setting of allogeneic stem cell transplantation: a comprehensive review from pathogenesis to forthcoming treatment modalities. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55(1):25—39. DOI: 10.1038/s41409-019-0548-7.
45. Liu YC, Wu CJ, Ko PS et al. Mycobacterial infections in adult recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a cohort study in high endemic area. *J Microbiol Immunol Infect* 2020; 53(2):274—282.
46. Hirsch HH, Martino R, Ward KN et al. Fourth European conference on infections in leukaemia (ECIL-4): Guidelines for diagnosis and treatment of human respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, metapneumovirus, rhinovirus, and coronavirus. *Clin Infect Dis* 2013; 56(2):258—266. DOI: 10.1093/cid/cis844.
47. Hatanaka M, Miyamura T, Koh K et al. Respiratory syncytial virus infection in infants with acute leukemia: a retrospective survey of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol* 2015; 102(6):697—701. DOI: 10.1007/s12185-015-1890-1.
48. Houist AL, Bondeelle L, Salmona M et al. Evaluation of prognostic scores for respiratory syncytial virus infection in a French multicentre cohort of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation recipients. *Bone Marrow Transplant* 2021; 56(12):3032—3041. DOI: 10.1038/s41409-021-01462-z.
49. Bergeron A, Cheng GS. Bronchiolitis obliterans syndrome and other late pulmonary complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Chest Med* 2017; 38(4):607—621. DOI: 10.1016/j.ccm.2017.07.003.
50. Sang ML, Park JJ, Sun HS et al. Acute fibrinous and organizing pneumonia following hematopoietic stem cell transplantation. *Korean J Intern Med* 2009; 24(2):156—159. DOI: 10.3904/KJIM.2009.24.2.156.
51. Takeuchi Y, Miyagawa-Hayashino A, Chen F et al. Pleuroparenchymal fibroelastosis and non-specific interstitial pneumonia: frequent pulmonary sequelae of haematopoietic stem cell transplantation. *Histopathology* 2015; 66(4):536—544. DOI: 10.1111/his.12553.

Глава 36.

Вакцинация взрослых пациентов после алло-ТГСК

Общие сведения

Инфекции являются одной из основных причин летальности, связанной с трансплантацией [1]. Реципиенты гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) более подвержены инфекционным заболеваниям, чем здоровые люди такого же возраста. Заболеваемость инфекцией, вызванной вирусом *varicella-zoster*, на 1000 здорового населения составляет 1,2—3,4 случая, в то время как, по данным ряда исследований, в группе пациентов после алло-ТГСК заболеваемость инфекцией, вызванной вирусом *varicella-zoster*, возрастает в 10 раз [2]. Вакцинация позволяет профилактировать развитие целого ряда инфекционных заболеваний, ассоциированных с высокой летальностью.

Вакцинация — это введение в организм человека медицинских иммунобиологических препаратов для создания специфической невосприимчивости к инфекционным заболеваниям. Вакцина — это препарат, предназначенный для обеспечения выработки иммунного ответа против какого-либо возбудителя путем стимулирования выработки антител. В связи с тем, что от 30% до 100% пациентов теряют специфический гуморальный иммунитет в течение года после трансплантации, пациенты после алло-ТГСК должны считаться «никогда не вакцинированными» [3].

На сегодняшний момент не существует единого календаря вакцинации для пациентов после алло-ТГСК. Трансплантационные центры могут использовать разные схемы вакцинации, адаптируя их под свои условия и возможности. В отличие от реципиентов солидных органов у реципиентов аллогенных ГСК предтрансплантационная вакцинация неэффективна для поддержания длительного иммунитета [3].

Как правило, чем позднее проводится вакцинация, тем лучший ответ достигается, это связано в первую очередь с иммунологической реконституцией после алло-ТГСК [4]. Для получения удовлетворительного иммунного ответа вакцинацию следует проводить после хотя бы частичного восстановления Т- и В-клеточного звена иммунитета, но не ранее чем через 6 месяцев после алло-ТГСК. Если пациенту проводят поддерживающую терапию заболевания, которая может повлиять на количество Т- или В-клеток, необходимо перед началом вакцинации оценить содержание CD19+ или CD20+ В-клеток (рекомендованное значение > 50 в 1 мкл), CD4+ Т-клеток (рекомендованное значение > 200 в 1 мкл) [4]. Для пациентов, получивших ритуксимаб после алло-ТГСК, программа вакцинации должна быть отложена как минимум на 6 месяцев после введения последней дозы этого препарата [5].

Многие вакцины вводят внутримышечно, что может вызвать развитие гематомы у пациентов после алло-ТГСК с тромбоцитопенией ($< 50 \times 10^9/\text{л}$). Пациентам с тяжелой тромбоцитопенией некоторые вакцины можно вводить подкожно (инактивированная вакцина для профилактики полиомиелита, конъюгированная пневмококковая вакцина) или внутрикожно (вакцины против гриппа). Клинический опыт показывает, что внутримышечные инъекции безопасны, если количество тромбоцитов $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$, при использовании иглы диаметром 23G и поддержке постоянного давления в месте инъекции в течение 2 минут после укола [3].

Виды вакцин и схемы вакцинации

Живые (аттенуированные) вакцины созданы на основе ослабленных бактерий или вирусных частиц (например, вакцины против полиомиелита, кори, краснухи и др.).

Инактивированные вакцины в составе имеют «убитые» бактерии или вирусы (например, вакцины от бешенства, клещевого энцефалита, гепатита А и др.).

Живые (аттенуированные) и инактивированные вакцины являются *цельноклеточными*.

Анатоксины (токсоиды) — особым образом обработанные токсины бактерий (например, столбнячный и дифтерийный анатоксин).

Субъединичные, в том числе синтетические вакцины, генно-инженерные и молекулярные (от гемофильной инфекции, гриппа, вируса папилломы человека, гепатита В, коклюша, пневмококковой и менингококковой инфекций), состоят из одного или нескольких (конъюгированных) очищенных поверхностных иммуногенных белков или полисахаридов патогенного микроорганизма, синтезированных в лаборатории путем применения методов генной инженерии, или могут быть взяты из разрушенного патогенного микроорганизма.

Анатоксины и субъединичные вакцины являются *фракционированными*, так как при их создании использовалась только часть возбудителя.

Если вакцина содержит несколько компонентов, то говорят о том, что она конъюгированная, за счет этого повышается иммуногенность. Другой способ повышения иммуногенности — это добавление адъювантов (например, алюминия или монофосфорил-липиды А), которые помогают антигену оставаться в одном месте и тем самым повышают активацию антигенпрезентирующих клеток, которые в свою очередь вырабатывают большое количество костимулирующих молекул.

Инактивированные вакцины безопасны у иммунокомпрометированных больных, а частота побочных реакций не отличается в сравнении с общей популяцией [3,6]. Также нет данных о том, что вакцинация провоцирует развитие реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) или усугубляет ее течение [5]. Живые аттенуированные вакцины (вакцины для профилактики ветряной оспы; кори, эпидемического паротита, краснухи) противопоказаны больным после алло-ТГСК и должны применяться в исключительных случаях у серонегативных пациентов не ранее чем через 24 месяца после трансплантации [5]. При этом стоит отметить, что наилучший иммунный ответ достигается при использовании конъюгированных с белком, а не полисахаридных вакцин.

В случае, если пациент получает иммуносупрессивную терапию, возможно проведение вакцинации только **инактивированными** вакцинами, но только при соблюдении условий, что количество использованных препаратов не превышает 3, а если используется преднизолон, то его доза составляет $< 0,5 \text{ мг/кг/сут}$. Иммуносупрессивная терапия не должна приводить к откладыванию вакцинации более чем на 3 месяца. Это относится к пациентам с продолжающейся активной или разрешенной хронической РТПХ любой степени тяжести. Хотя на практике большинство центров откладывают вакцинацию у пациентов с проявлениями РТПХ [7].

Живые вакцины для профилактики: полиомиелита для приема внутрь, туберкулеза (бацилла Кальметта—Герена — БЦЖ), брюшного тифа для

приема внутрь, гриппа для интраназального введения, ротавирусной инфекции — не рекомендованы для пациентов после алло-ТГСК [3].

Исключением из этого правила являются живые вакцины для профилактики кори, эпидемического паротита, краснухи; желтой лихорадки; опоясывающего герпеса, которые рекомендуются при соблюдении строгих правил безопасности; все эти вакцины противопоказаны в течение 24 месяцев после алло-ТГСК и более в случае активной РТПХ или проведения иммуносупрессивной терапии на момент вакцинации. При вакцинации живыми и неживыми адъювантными вакцинами должно быть соблюдено **правило 2-1-8**:

- более 2 лет после алло-ТГСК;
- более 1 года после окончания иммуносупрессивной терапии (более 8 мес для неживых адъювантных вакцин);
- более 8 месяцев после последнего в/в введения иммуноглобулина и свежзамороженной плазмы.

При применении инактивированных вакцин в/в введение иммуноглобулинов не подавляет развитие иммунного ответа. Для живых вирусных вакцин вакцинацию следует отложить на 8 месяцев после введения иммуноглобулина [4].

Таблица 1. Схема вакцинации взрослых инактивированными вакцинами до +12 месяцев после алло-ТГСК [5]

Вакцина для профилактики	Время после алло-ТГСК, месяцы									Минимальный интервал между введениями, месяцы
	6 ^	8 ^	10 ^	12 ^	13 ^	14 ^	16 ^	18 ^	24 ^	
Гриппа инактивированная (сентябрь—март)	+ ¹									
Инфекции, вызываемой <i>Haemophilus influenzae</i> типа b	+	+	+	Титр анти-тел					Титр анти-тел	1—2
Менингококковой инфекции серогрупп А, С, W, Y полисахаридная конъюгированная	+	+								
Менингококковой инфекции, вызываемой <i>Neisseria meningitidis</i> серогруппы B, рекомбинантная (рДНК) субъединичная адсорбированная ²			+	+						
Пневмококковой инфекции полисахаридная конъюгированная адсорбированная 13-валентная (PCV13)	+	+	+	Титр анти-тел ³					Титр анти-тел ³	1—2
Пневмококковой инфекции 23-валентная (PPSV23)							PCV13 или PPSV23 ⁴			

Таблица 1 (окончание). Схема вакцинации взрослых инактивированными вакцинами до +12 месяцев после алло-ТГСК [5]

Вакцина для профилактики	Время после алло-ТГСК, месяцы								Минимальный интервал между введениями, месяцы
	6 ^	8 ^	10 ^	12 ^	13 ^	14 ^	16 ^	18 ^	24 ^
Полиомиелита инактивированная	+	+	+						1—2
Гепатита В ⁵				+	+	+	+		Титр анти-тел ⁵ 2
Вируса папилломы человека (от 9 до 45 лет)				+		+	+		2 после 1-й дозы, 4 после 2-й
Дифтерии, коклюша и столбняка (АКДС-вакцина)	+	+	+	Титр анти-тел ⁶					Титр анти-тел ⁶ 1—2

¹ При иммуносупрессивной терапии рекомендуется двукратное введение вакцины с интервалом в месяц.

² Рекомендуется пациентам с асплинией или функциональным аспленизмом (хроническая РТПХ) или с повышенным риском в окружении.

³ Проверить титр антител к *Streptococcus pneumoniae* (IgG, 23 серотипа): если титр не достигнут к 12-му месяцу, повторно проверить через 24 месяца после алло-ТГСК.

⁴ Пациентам с хронической РТПХ, которые вряд ли ответят на PPSV23, лучше вводить 4-ю дозу PCV13.

⁵ Проверить титр антител через 24 месяца, если это не было сделано через 20 месяцев. Тестирование на антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В (анти-НВs) рекомендуется проводить через 1—2 месяца после 4-й дозы. В отсутствие антител после 4-й дозы вводят еще 1—3 дозы той же вакцины.

⁶ Проверить титр IgG к столбнячному анатоксину.

Таблица 2. Схема вакцинации взрослых инактивированными вакцинами: стандартный календарь [5]

Вакцина для профилактики	Время после алло-ТГСК, месяцы						Минимальный интервал между введениями, месяцы
	12 ^	13 ^	14 ^	16 ^	18 ^	24 ^	
Гриппа инактивированная (сентябрь—март)	+ ¹						
Инфекции, вызываемой <i>Haemophilus influenzae</i> типа b	+		+	+		Титр антител	1—2
Менингококковой инфекции серогрупп А, С, W, Y полисахаридная конъюгированная	+		+				
Менингококковой инфекции, вызываемой <i>Neisseria meningitidis</i> серогруппы B, рекомбинантная (pДНК) субъединичная адсорбированная ²				+	+		

Таблица 2 (окончание). Схема вакцинации взрослых инаktivированными вакцинами: стандартный календарь [5]

Вакцина для профилактики	Время после алло-ТГСК, месяцы						Минимальный интервал между введениями, месяцы
	12 ^	13 ^	14 ^	16 ^	18 ^	24 ^	
Пневмококковой инфекции полисахаридная конъюгированная адсорбированная 13-валентная (PCV13)	+		+	+	Титр анти-тел ³	Титр антител	1—2
Пневмококковой инфекции 23-валентная (PPSV23)						PCV13 или PPSV23 ⁴	
Полиомиелита инаktivированная	+		+	+			1—2
Гепатита В ⁵	+	+	+		+	Титр антител	2
Вируса папилломы человека (от 9 до 45 лет)	+		+		+		2 после 1-й дозы, 4 после 2-й
Дифтерии, коклюша и столбняка (АКДС-вакцина)	+		+	+		Титр антител ⁶	1—2

¹ Рекомендовано выполнить на сроке 6 месяцев после алло-ТГСК.
² Рекомендуется пациентам с асплинией или функциональным асплинизмом (хроническая РТПХ) или с повышенным риском в окружении.
³ Проверить титр антител к *Streptococcus pneumoniae* (IgG, 23 серотипа): если титр не достигнут к 18-му месяцу, повторно проверить через 24 месяца после алло-ТГСК.
⁴ Пациентам с хронической РТПХ, которые вряд ли ответят на PPSV23, лучше вводить 4-ю дозу PCV13.
⁵ Проверить титр антител через 24 месяца, если это не было сделано через 20 месяцев. Тестирование на антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В (анти-HBs) рекомендуется проводить через 1—2 месяца после 4-й дозы. В отсутствие антител после 4-й дозы вводят еще 1—3 дозы той же вакцины.
⁶ Проверить титр IgG к столбнячному анатоксину.

Таблица 3. Схема вакцинации взрослых живыми вакцинами [5]

Живые вакцины	Менее +24 месяцев после алло-ТГСК	Более +24 месяцев после алло-ТГСК
Для профилактики кори, эпидемического паротита и краснухи	Никаких живых вакцин!!!	2 дозы (с минимальным интервалом в 1 месяц) Правило 2-1-8
Для профилактики ветряной оспы. Только серонегативным! (Проверить титр антител до проведения вакцинации и через 1—2 месяца после)		2 дозы (с минимальным интервалом в 1 месяц) Правило 2-1-8

Таблица 4. Схема вакцинации взрослых: для неживых адъювантных вакцин [5]

Неживые адъювантные вакцины	+12 месяцев после алло-ТГСК	Более +12 месяцев после алло-ТГСК
Для профилактики опоясывающего герпеса. Только серопозитивным! Лицам старше 18 лет, у которых прошел 1 год после алло-ТГСК, более 8 месяцев после окончания иммуносупрессивной терапии и без обострений РТПХ	Исследование титра антител для подтверждения серопозитивности пациента. Если у пациента серонегативный статус, то вакцинация возможна только через 2 года после алло-ТГСК с использованием живой вакцины и применением препарата 2-1-8	2 дозы (с минимальным интервалом 2 месяца)

Ревакцинация

Ревакцинация пациентов после алло-ТГСК, получивших полный курс вакцинации в соответствии с графиком вакцинации для пациентов после алло-ТГСК:

- Вакцина для профилактики дифтерии, коклюша и столбняка — через 5 лет, далее каждые 10 лет.
- Инактивированная вакцина для профилактики полиомиелита — каждые 10 лет.
- Вакцина для профилактики кори, эпидемического паротита и краснухи — через 5 лет, далее каждые 10 лет (в зависимости от титра поствакцинальных антител возможна и более ранняя ревакцинация).
- Вакцина для профилактики пневмококковой инфекции 23-валентная — через 3 года, далее каждые 5 лет.

Вакцинация и серопротекция до путешествий в эндемичные зоны

Если существуют противопоказания для вакцинации, следует посоветовать пациенту не ездить в эндемичные районы. Вакцинация — лишь одна из мер предосторожности, которую следует соблюдать пациентам после алло-ТГСК. Другие не менее важные меры — химиопрофилактика малярии; меры предосторожности против комаров; безопасность пищевых продуктов для предотвращения диареи; избегать пребывания на солнце.

Таблица 5. Вакцинация до путешествий в эндемичные регионы

Заболевание	Сроки проведения вакцинации
Клещевой энцефалит и японский энцефалит типа В	В соответствии с рекомендациями в эндемичных районах. Нет данных относительно времени после алло-ТГСК, когда можно ожидать, что вакцинация вызовет иммунный ответ

Таблица 5 (окончание). Вакцинация до путешествий в эндемичные регионы

Заболевание	Сроки проведения вакцинации
Бешенство	Вакцина для профилактики бешенства (антирабическая) производится из убитого вируса и не может вызывать бешенство. Однако нет данных относительно безопасности, иммуногенности или эффективности среди реципиентов ГСК. Предэкспозиционную (профилактическую) вакцинацию против бешенства следует отложить до 12—24 месяцев после алло-ТГСК. Постэкспозиционное введение антирабической вакцины с человеческим антирабическим Ig возможно в любое время после алло-ТГСК в зависимости от категории контакта в соответствии с рекомендациями ВОЗ [8]
Желтая лихорадка	Существуют ограниченные данные относительно безопасности и эффективности [3]. Соотношение риска и пользы может способствовать использованию вакцины пациентами, проживающими или путешествующими в эндемичные районы
Гепатит А	В соответствии с рекомендациями в эндемичных районах. Нормальный Ig необходимо вводить реципиентам ГСК, у которых ожидается заражение гепатитом А (например, во время поездок в эндемичные районы) и для постконтактной профилактики
Брюшной тиф, инактивированная вакцина	Нет данных относительно безопасности, иммуногенности или эффективности среди реципиентов ГСК. NB! Вакцина для профилактики брюшного тифа для приема внутрь является живой аттенуированной и противопоказана пациентам после алло-ТГСК
Холера	Нет данных относительно безопасности, иммуногенности или эффективности среди реципиентов ГСК. Вакцина не рекомендована

Вакцинация доноров, близких родственников реципиентов ГСК и медицинских работников, работающих с ними

Инактивированные вакцины можно безопасно вводить донорам, близким родственникам пациентов после алло-ТГСК и медработникам, работающим с ними.

Необходимо провести тщательную оценку живых вакцин, часть из них безопасны для реципиентов ГСК, другие могут нанести серьезный ущерб.

Донорам не рекомендуется проводить вакцинацию в интересах реципиента, вводят только те вакцины, которые соответствуют календарю прививок. Следует избегать введения вакцин против кори, эпидемического паротита, краснухи, вируса *varicella-zoster* в течение 4 недель после сбора стволовых клеток, а перед забором ГСК следует избегать использования всех живых вакцин из-за риска передачи возбудителя с трансплантатом.

Вакцины, рекомендованные близким родственникам реципиентов ГСК и медицинским работникам, работающим с ними:

Грипп, инактивированная — показана, пока есть контакт с реципиентом.

Ветряная оспа (серонегативным) — 2 дозы, разделенные не менее чем на 28 дней.

Корь (серонегативным медработникам) — рекомендована.

Меры предосторожности — см. табл. 6.

Таблица 6. Вакцинация доноров, близких родственников реципиентов ГСК и медицинских работников, работающих с ними

Вакцина для профилактики	Меры предосторожности
Гриппа для интраназального введения	Контакта между пациентом с иммуносупрессивной терапией следует избегать в течение 7 дней
Кори, эпидемического паротита и краснухи	Отсутствие риска для пациента после алло-ТГСК
Ветряной оспы	Вакцинация должна быть завершена за более чем 4 недели до начала кондиционирования или более 6 недель (42 дней) до запланированного контакта с реципиентом ГСК. Если у вакцинированного от ветряной оспы появляется сыпь после вакцинации в течение 42 дней после вакцинации, вакцинированный должен избегать контактов с реципиентами ГСК до тех пор, пока все высыпания не покроются коркой или не исчезнет сыпь
Полиомиелита для приема внутрь	Нельзя вводить лицам, проживающим в семье с больными, т. к. вакцинированные выделяют со стулом живые аттенуированные штаммы полиовируса, которые могут вызывать паралитический полиомиелит у пациентов после алло-ТГСК. Если вакцинация проведена, необходимо изолировать реципиента на 8—12 недель
Ротавирусной инфекции	Вакцина против ротавируса с 2022 г. включена в календарь прививок детей. Ротавирус выделяется с калом в течение 2—4 недель после вакцинации. Передача вируса от вакцинированного к реципиенту ГСК подтверждена, но случаев симптоматической инфекции у лиц, контактировавших с ними, не зарегистрировано. Реципиенты алло-ТГСК не должны контактировать со стулом или пеленками вакцинированных детей в течение 4 недель после вакцинации

Вакцинация против COVID-19 реципиентов ГСК

Текущие рекомендации Национальной онкологической сети (NCCN), Американского общества трансплантологов и специалистов по клеточным технологиям (ASTCT), Европейской исследовательской группы

по трансплантации костного мозга и стволовых клеток крови (ЕВМТ) и 9-й Европейской конференции по инфекциям при лейкозах (ЕСIL9) предлагают рассматривать пациентов после алло-ТГСК как «никогда не вакцинированных» независимо от истории вакцинации пациента или донора до алло-ТГСК [9]. Реципиенты аллогенных ГСК в возрасте старше 5 лет должны быть вакцинированы против SARS-CoV-2 [10]. Пациентам показана любая вакцина, доступная в их стране, при условии, что она **не** является живой аттенуированной или **не** содержит реплицирующихся вирусных векторов (как, например, векторные вакцины против кори, вируса ветряночного стоматита, вируса гриппа). Вакцинация против COVID-19 в Российской Федерации проводится в соответствии с Временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [11].

Предпочтительны мРНК-вакцины. В РФ доступные вакцины против SARS-CoV-2 содержат аденовирусные векторы, которые не способны к репликации и не представляют угрозу безопасности пациентов после алло-ТГСК. Одной из потенциальных проблем является эффективность вакцины у пациентов с предшествующей аденовирусной инфекцией. Это было отмечено при использовании рекомбинантного аденовируса серотипа 5 (Ad5). Однако аденовирус серотипа 26 (Ad26) обычно не циркулирует в общей популяции, в связи с чем наличие ранее существовавших антител к этому штамму маловероятно.

Время после алло-ТГСК для проведения вакцинации

У пациентов после алло-ТГСК частота ответов на вакцинацию ниже, чем у здоровых людей, особенно если пациенты вакцинируются вскоре после алло-ТГСК. Поэтому имеет смысл адаптировать время начала вакцинации в зависимости от эпидемиологической ситуации по SARS-CoV-2. Так, если уровень передачи инфекции в окружающей среде высок, вакцинацию можно начать не раньше чем через три месяца после алло-ТГСК. Если передача инфекции в окружающей среде хорошо контролируется, желательно подождать до шести месяцев после алло-ТГСК, чтобы начать вакцинацию.

Безопасность

Вероятность развития побочных эффектов после вакцинации против COVID-19 сопоставима с группой здоровых людей. Однако в некоторых исследованиях сообщалось о риске возникновения или ухудшения РТПХ после вакцинации против COVID-19 [12, 13].

Ревакцинация

Любую предыдущую вакцинацию против COVID-19 до алло-ТГСК, до CAR-T-клеточной терапии следует не учитывать, и рекомендуется проводить ревакцинацию, как если бы они никогда не проводилась. Вакцинация против COVID-19 должна иметь приоритет над обычной программой вакцинации. Вакцину против COVID-19 следует вводить отдельно, но ее можно сочетать со стандартной дозой инактивированной гриппозной вакцины. Целесообразно избегать применения других вакцин за 7 дней до и после введения мРНК-вакцин или нереплицирующихся векторных вакцин против SARS-CoV-2, если только показания для применения другой вакцины не являются убедительными.

В отдельных случаях вакцинация может быть перенесена. Так, *критериями для отсрочки вакцинации против COVID-19*, основанными на текущих знаниях, являются:

- Пациенты с тяжелой неконтролируемой острой РТПХ III—IV степени.
- Пациенты, получившие лечение анти-CD20 антителами (ритуксимаб, обинтузумаб) в течение последних 6 месяцев, а также пациенты, получившие терапию препаратами, подавляющими В-клетки (инотузумаб, блинатумомаб).
- CAR-T-клеточная терапия до истечения 6 месяцев после лечения.
- Пациенты, недавно получавшие антитимоцитарный глобулин или алемтузумаб.

Важно, что общие профилактические меры с целью исключения заражения COVID-19 следует продолжать и после вакцинации. Защита от COVID-19 со временем ослабевает, и вполне вероятно, что у пациентов с ослабленным иммунитетом она будет короче, чем у здоровых людей.

Реципиентам ГСК рекомендуется третья доза вакцины. Наилучшее время введения 3-й дозы в настоящее время неизвестно, но можно рассматривать период от 4 недель до 5 месяцев после 2-й дозы.

Также в настоящее время нет рекомендаций по определению концентрации антител после вакцинации. Тем не менее он может быть показан некоторым пациентам — например, пациентам, получавшим лечение CAR-T-клетками, или рано вакцинированным после алло-ТГСК, или с нестабильной РТПХ.

Пациентам, получающим внутривенный иммуноглобулин, рекомендуется не откладывать вакцинацию. Реципиентам аллогенных ГСК, которым запланировано проведение цитостатической терапии, может быть предложена вакцина против COVID-19 до терапии, и

необходимо, чтобы прошло по крайней мере две недели после второй дозы, чтобы дать возможность формирования ответа Т-клеткам памяти. Цитостатическую или анти-В-клеточную терапию после алло-ТГСК часто используют в качестве поддерживающей, что может способствовать слабому иммунному ответу на вакцину. Пациентам, которые ранее были инфицированы SARS-CoV-2, после завершения периода изоляции следует предложить вакцинацию. Однако нет данных, какое количество доз для вакцинации будет достаточно.

Также, если пациент после алло-ТГСК заболевает инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, несмотря на проведенную ранее вакцинацию против COVID-19, этим пациентам не противопоказана терапия моноклональными антителами. Если пациент ранее получал моноклональные антитела против SARS-CoV-2, Центр по контролю и профилактике заболеваний США рекомендуют отложить вакцинацию (продолжительность отсрочки зависит от периода полувыведения антитела и показаний его введения).

Применение иммуноглобулина человека против COVID-19

Применение высокоочищенного препарата иммуноглобулина основано на концепции пассивной иммунизации. Действующим началом препарата являются IgG (не менее 95%), обладающие активностью антител к SARS-CoV-2, полученные из пула плазмы доноров. Рекомендации по введению иммуноглобулина человека против COVID-19 представлены во Временных методических рекомендациях по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [11].

Вакцинация против COVID-19 доноров ГСК, родственников и медицинских работников

Вакцинация против COVID-19 в Российской Федерации проводится в соответствии с Временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [11].

В случае, если вакцинация донора нереплицирующимися вакцинами (на основе мРНК или нереплицирующегося компетентного вирусного вектора) произошла накануне донации, необходимо подождать несколько дней (3—7) после вакцинации, прежде чем начинать применение Г-КСФ для мобилизации ГСК [10].

Донорам не рекомендуется проводить вакцинацию в интересах реципиента. Если проведение алло-ТГСК не является срочным, имеет смысл вакцинировать донора перед сдачей ГСК, чтобы снизить риск заражения донора инфекцией, вызванной SARS-CoV-2. Но при этом

проведение срочной донации ГСК для трансплантации не должно быть отложено по причине вакцинации донора. Родственники в возрасте старше 5 лет, живущие с реципиентом ГСК, должны быть вакцинированы, особенно если реципиент ГСК находится на раннем этапе после алло-ТГСК или получает интенсивную иммуносупрессивную терапию [10].

Медицинские работники должны быть вакцинированы, чтобы защитить пациентов, также необходимо соблюдать строгие меры инфекционного контроля, поскольку могут случиться прорывные инфекции [10].

Литература

1. Carreras E, Masszi T, Apperley J (editors). The EBMT handbook. 6th ed. Haematopoietic stem cell transplantation. Paris: European School of Haematology; 2012. 683 p.
2. Leung TF, Chik KW, Li CK et al. Incidence, risk factors and outcome of varicella-zoster virus infection in children after haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25(2):167—172. DOI: 10.1038/SJ.BMT.1702119.
3. Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P et al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis* 2014; 58(3):309—318. DOI: 10.1093/cid/cit816.
4. de la Cámara R. Vaccinations. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N (editors). The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019. P. 207—219. DOI: 10.1007/978-3-030-02278-5_29.
5. Cordonnier C, Einarsdottir S, Cesaro S et al. Vaccination of haemopoietic stem cell transplant recipients: guidelines of the 2017 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 7). *Lancet Infect Dis* 2019; 19(6):e200—e212. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30600-5.
6. Beck CR, McKenzie BC, Hashim AB et al. Influenza vaccination for immunocompromised patients: Systematic review and meta-analysis by etiology. *J Infect Dis* 2012; 206(8):1250—1259. DOI: 10.1093/infdis/jis487.
7. Miller PDE, de Silva TI, Skinner R et al. Routine vaccination practice after adult and paediatric allogeneic haematopoietic stem cell transplant: a survey of UK NHS programmes. *Bone Marrow Transplant* 2017; 52:5(775—777). Erratum: *Bone Marrow Transplant* 2017; 52:1082. DOI: 10.1038/bmt.2017.87.
8. World Health Organization. Rabies vaccines: WHO position paper, April 2018 — Recommendations. *Vaccine* 2018; 36(37):5500—5503. DOI: 10.1016/J.VACCINE.2018.06.061.
9. Müller CR, Ehninger G, Goldmann SF. Gene and haplotype frequencies for the loci HLA-A, HLA-B, and HLA-DR based on over 13,000 German blood donors. *Hum Immunol* 2003; 64(1):137—151. DOI: 10.1016/S0198-8859(02)00706-1.

10. Cesaro S, Ljungman P, Mikulska M et al. Recommendations for the management of COVID-19 in patients with haematological malignancies or haematopoietic cell transplantation, from the 2021 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 9). *Leukemia* 2022; 36(6):1467—1480. DOI: 10.1038/S41375-022-01578-1.
11. Временные методические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению COVID-19. Версия 18 (26.10.2023). URL: static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/064/610/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V18.pdf.
12. Bergman P, Blennow O, Hansson L et al. Safety and efficacy of the mRNA BNT162b2 vaccine against SARS-CoV-2 in five groups of immunocompromised patients and healthy controls in a prospective open-label clinical trial. *EBioMedicine* 2021; 74:103705. DOI: 10.1016/J.EBIOM.2021.103705.
13. Ram R, Hagin D, Kikozashvili N et al. Safety and immunogenicity of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in patients after allogeneic HCT or CD19-based CART therapy — a single-center prospective cohort study. *Transplant Cell Ther* 2021; 27(9):788—794. DOI: 10.1016/J.JTCT.2021.06.024.

М. В. Довыденко, З. В. Конова, О. М. Королева, В. А. Васильева,
Л. А. Кузьмина, М. Ю. Дроков, И. А. Лукьянова, Г. А. Басхаева,
О. А. Алешина, А. Н. Соколов

Глава 37.

Профилактика рецидива заболевания после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с острыми лейкозами

Введение

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) представляет собой метод, способный излечить различные гематологические злокачественные новообразования. Тем не менее более чем у трети пациентов после алло-ТГСК возникает рецидив заболевания, возможности лечения которого в такой ситуации весьма ограничены. Большинство пациентов с рецидивом заболевания после алло-ТГСК погибают в течение года [2]. За последние десятилетия удалось добиться существенного уменьшения смертности, не связанной с рецидивом. При этом частота рецидивов у пациентов с острым лейкозом после алло-ТГСК по-прежнему составляет порядка 50%. Прогноз в такой ситуации крайне неблагоприятный, так как многие из этих больных, особенно с ранним рецидивом, либо не переносят, либо оказываются невосприимчивыми к химиотерапии. Кроме того, даже с помощью клеточной терапии, такой как трансфузии лимфоцитов донора и повторная трансплантация, достичь стойкой ремиссии заболевания в долгосрочной перспективе удастся далеко не у всех пациентов. В конечном счете 2-летняя выживаемость пациентов с рецидивом после алло-ТГСК составляет менее 20%, независимо от выбранной программы лечения рецидива [26]. Таким образом, разработка эффек-

тивных методов не только лечения, но и профилактики развития гематологических злокачественных новообразований, поддерживающей терапии после алло-ТГСК является наиболее важной проблемой, которая в настоящее время решена не полностью.

Возможность начала посттрансплантационной поддерживающей терапии следует рассматривать на сроках +2—3 месяца после алло-ТГСК после стойкого восстановления показателей периферической крови (пациент не должен нуждаться в проведении заместительных трансфузий, количество лейкоцитов должно быть $\geq 2 \times 10^9/\text{л}$) [29]. По тем данным, которые представлены в литературе, известен диапазон сроков начала профилактической терапии после алло-ТГСК: +49—120 дней. Следует учитывать, что в более ранние сроки увеличиваются риски развития вторичной несостоятельности трансплантата, а также острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) в случае включения в схему терапии иммуноопосредованного воздействия (трансфузии лимфоцитов донора). Начало поддерживающей терапии в более отдаленные сроки утрачивает свою актуальность, так как рецидивы после алло-ТГСК чаще всего развиваются в течение первого года после алло-ТГСК [16].

При выборе схемы посттрансплантационной профилактической терапии необходимо учитывать наличие или отсутствие у больного минимальной остаточной болезни (МОБ-статус) на момент выполнения алло-ТГСК, а именно, пациентам с МОБ-позитивным статусом целесообразно рассматривать возможность проведения профилактической терапии в более агрессивном режиме (предпочтительна комбинация иммуноопосредованного и фармакологического воздействия) и начинать как можно раньше.

Группы пациентов, для которых целесообразно рассматривать возможность проведения поддерживающей терапии после алло-ТГСК (перечисление в порядке уменьшения важности):

- отсутствие ремиссии на момент выполнения алло-ТГСК, в том числе наличие МОБ на момент выполнения алло-ТГСК;
- вторая и более ремиссия острого лейкоза;
- группа высокого риска: наличие экстрамедуллярного поражения в анамнезе, острый лейкоз смешанного фенотипа; острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) неблагоприятного и промежуточного риска по классификации ELN 2022; ЕТР-вариант и nearЕТР-вариант Т-острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), наличие мутации *TP53*, В-ОЛЛ с перестройкой гена *MLL*, Ph+ и Ph-like ОЛЛ, персистенция МОБ после 70-го дня протокола для ОЛЛ;
- первая полная ремиссия острого лейкоза после проведения второй и последующих линий терапии (достижение ремиссии после констатации рефрактерности);

- применение низкодозной химиотерапии до алло-ТГСК;
- непрограммное лечение, уменьшение доз химиопрепаратов и увеличение интервалов между курсами на этапах индукции/консолидации.

Выявление МОБ в контрольные сроки после алло-ТГСК целесообразно рассматривать как рецидив заболевания, который требует не профилактики, а применения лечебной стратегии.

Для выбора режима посттрансплантационной поддерживающей терапии с целью профилактики развития рецидива заболевания необходимо учитывать следующие параметры (перечисление приводится в порядке уменьшения важности):

- вариант острого лейкоза;
- МОБ-статус до алло-ТГСК;
- наличие или отсутствие мишеней для таргетной терапии;
- показатели восстановления гемопоэза после алло-ТГСК [например, при количестве лейкоцитов $1-2 \times 10^9/\text{л}$, наличии зависимости от трансфузий компонентов донорской крови проведение химиотерапевтического вмешательства невозможно и следует рассмотреть возможность проведения только трансфузии лимфоцитов донора (ТЛД)];
- соотношение химеризма донор/реципиент на момент принятия решения (смешанный донорский химеризм является фактором риска несостоятельности трансплантата, вследствие чего тактика ведения пациента в первую очередь будет направлена на восстановление полного донорского химеризма);
- совместимость между донором и реципиентом по антигенам HLA (полностью или частично совместимый донор);
- наличие клиники острой или хронической РТПХ;
- инфекционный статус пациента.

Варианты режимов поддерживающей терапии с целью профилактики развития рецидива при острых лейкозах после алло-ТГСК

1. Фармакологическое воздействие в сочетании с иммуноопосредованным воздействием или без него.
2. Иммуноопосредованное воздействие — ТЛД.

Фармакологическое воздействие в сочетании с иммуноопосредованным воздействием или без него

Фармакологические подходы к профилактике рецидива после алло-ТГСК основаны либо на прямой противоопухолевой активности,

либо на усилении эффекта реакции «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ). Выбор препарата должен учитывать ряд аспектов: препарат должен не только эффективно элиминировать остаточные опухолевые клетки, но и иметь приемлемый профиль безопасности без существенного увеличения риска развития РТПХ, глубокой цитопении и инфекционных осложнений. У пациентов с гипофункцией трансплантата и/или тяжелыми инфекционными осложнениями посттрансплантационная профилактическая терапия с использованием лекарственных препаратов ограничена, для этой группы пациентов целесообразно рассматривать возможность проведения трансфузий лимфоцитов донора самостоятельно или в комбинации с фармакологическим воздействием. Необходимо учитывать, что развитие гематологической токсичности на фоне профилактической поддерживающей терапии в посттрансплантационном периоде может иметь драматический исход для пациента (вторичная несостоятельность трансплантата, необходимость выполнения повторной алло-ТГСК, дополнительного введения CD34+ клеток, увеличение риска инфекционных осложнений). Это связано с неполным восстановлением кроветворения в течение первого года после алло-ТГСК. Учитывая этот факт, необходима своевременная коррекция дозы и длительности приема препаратов в случае необходимости. Также поводом для редукции доз препаратов или увеличения межкурсовых интервалов может служить развитие негематологической токсичности. В каждом отдельном случае необходимо взвешивать риск/пользу для пациента.

Далее будут приведены схемы, которые были апробированы в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, а также те, которые описаны в литературе. Предложенные курсы, включают в себя препараты, доступные на территории России в 2023 г. (см. рис. 1).

Острый миелоидный лейкоз, варианты посттрансплантационной профилактической терапии

Согласно имеющимся данным, наиболее эффективными и безопасными для применения у пациентов с ОМЛ после алло-ТГСК являются гипометилирующие препараты (антиметаболиты, аналоги пиримидина) и ингибиторы тирозинкиназ (ингибиторы *FLT3*). Фармакологические подходы к профилактике рецидива после алло-ТГСК могут применяться в сочетании с трансфузиями лимфоцитов донора, однако в данном случае лимитирующим фактором будет являться наличие признаков развития РТПХ или продолжающаяся терапия по поводу РТПХ.

Наиболее распространенным фармакологическим подходом к профилактике рецидивов после алло-ТГСК для пациентов с ОМЛ являют-

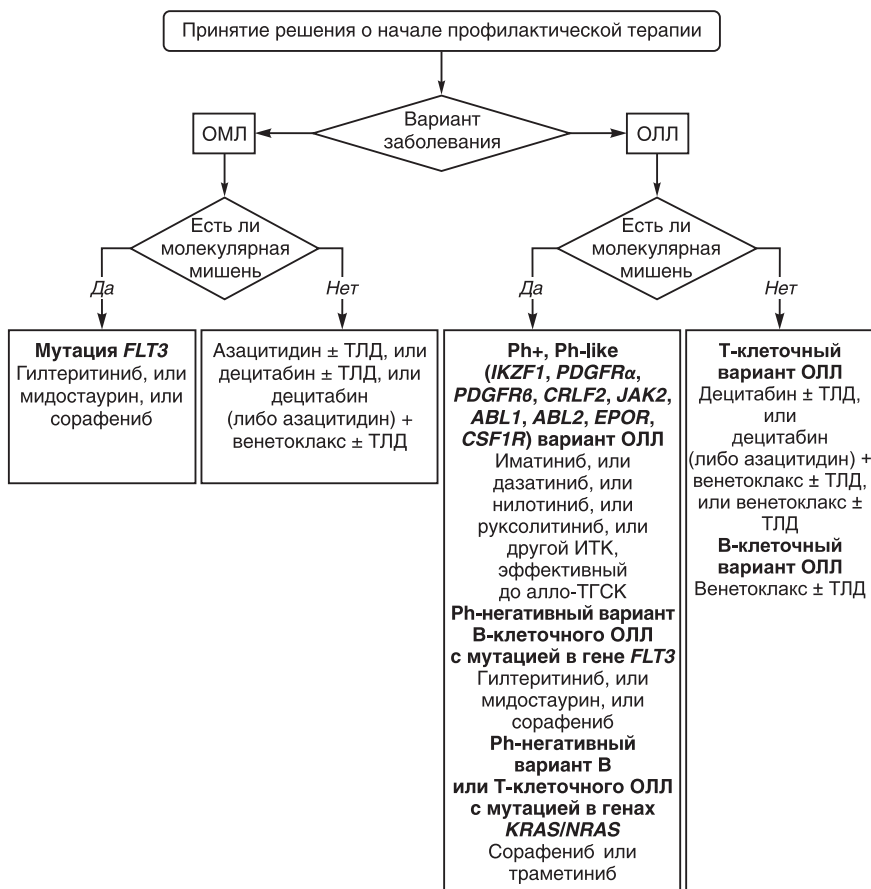


Рисунок 1. Схема выбора фармакологического подхода в зависимости от варианта заболевания. Схемы лечения и дозы — см. текст.

ся ДНК-гипометилирующие препараты (гипометилирующие агенты — ГМА). Механизм действия ГМА четко не определен. Однако считается, что помимо своей антилейкемической активности они могут увеличивать экспансию регуляторных Т-клеток, индуцируя экспрессию *FOXP3* на CD4+ CD25-Т-клетках, что способствует снижению риска РТПХ при одновременном усилении эффекта РТПЛ [6, 12]. К настоящему времени в России одобрено к клиническому применению два ГМА — азацитидин и децитабин.

Эффективность применения ГМА с целью профилактики рецидива после алло-ТГСК была продемонстрирована в ряде исследований. Оптимальная схема посттрансплантационной терапии с использованием

азациитидина ($32 \text{ мг/м}^2 \times 4$ курса) была установлена в исследовании I фазы, включившем 45 пациентов. При использовании такого режима профилактики однолетняя общая выживаемость (ОВ) составила 77% [19]. В 2021 г. был опубликован метаанализ, в который суммарно было включено 809 пациентов, получавших поддерживающую терапию после трансплантации либо ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) (для пациентов с *FLT3-ITD*), либо ГМА. Двухлетняя выживаемость составила 81,7% (95% ДИ 73,8–87,7%) и 65,7% (95% ДИ 55,1–74,9%) среди пациентов, получавших ИТК и ГМА соответственно [3]. Децитабин также изучался в качестве поддерживающей терапии после алло-ТГСК, его применение сопровождалось гематологической токсичностью 3–4-й степени во время лечения. В исследовании, проведенном на базе Вашингтонского университета, 2-летняя ОВ составляла 56%, а общая частота рецидивов — 28% [25].

Основное преимущество гипометилирующих агентов заключается в том, что они могут использоваться при всех вариантах ОМЛ, независимо от генетических мутаций, и в настоящее время они используются в качестве основы для многих потенциальных комбинаций, либо с ТЛД, либо с таргетными препаратами. Применение ГМА в сочетании с ТЛД может существенно усиливать аллореактивный иммунный ответ.

Методика использования комбинации азациитидина с трансфузией лимфоцитов донора прошла клиническую апробацию в России (КА 2017-47-4 и КА 2019-47-8) и в настоящее время активно применяется в условиях ФГБУ «НМИЦ гематологии» (разработчик) и в ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова». В рамках описанной методики лимфоциты донора вводили в 1-й день курса, а с 1-го по 4-й дни курса пациенты подкожно получали азациитидин в дозе 32 мг/м^2 . Следующий курс терапии начинали через 28 дней от первого дня предыдущего, суммарно проводили 4 таких курса. Вероятность однолетней бессобытийной выживаемости составила 72,2%, но в более поздние сроки после прекращения поддерживающей терапии число рецидивов увеличивается. На основании полученных результатов разработчиками предлагается модифицированная версия протокола «азациитидин + ТЛД». Отличием от апробированной версии является увеличение числа курсов, а также изменение дозы CD3^+ клеток в зависимости от сроков после алло-ТГСК. Методика включает введение лимфоцитов донора в 1-й день курса и последующее введение азациитидина, $32 \text{ мг/м}^2/\text{сут}$, в 1–4-й дни курса. Следующий курс терапии должен начинаться через 28 дней от первого дня предыдущего, суммарно запланировано проведение 8 курсов. Дозы лимфоцитов различаются в зависимости от совместимости пары донор/реципиент и номера курса: с 1-го по 3-й курс вводят по

1×10^6 /кг CD3+ клеток от HLA-идентичных доноров и по 1×10^5 /кг CD3+ клеток от частично совместимых доноров, а с 4-го по 8-й курсы доза лимфоцитов уменьшается и составляет 1×10^5 /кг для совместимых и 1×10^4 /кг для частично совместимых доноров.

Венетоклакс, высокоселективный пероральный низкомолекулярный ингибитор BCL2, одобренный для лечения ХЛЛ и ОМЛ. Венетоклакс использовали в качестве монотерапии для поддерживающей терапии после алло-ТГСК. В 2020 г. Kent et al. опубликовали результаты исследования, включившего 23 пациента после трансплантации [22 с ОМЛ и 1 с миелодиспластическим синдромом (МДС)], которые получали венетоклакс ежедневно (с постепенным увеличением дозы до 400 мг/сут). ОБ и безрецидивная выживаемость (БРВ) в течение 6 месяцев составили 87%. Наиболее частыми побочными эффектами были цитопения и диарея, но только 3 пациента прекратили прием препарата из-за указанных побочных эффектов [17].

Комбинация ГМА и венетоклакса представляет собой схему лечения, которая в последнее время вызывает значительный интерес и продолжает изучаться. В исследовании 2021 г. Wei et al., включившем 20 пациентов (17 с ОМЛ, 3 с МДС), которые получали децитабин, 15 мг/м²/сут в течение 3 дней, а затем венетоклакс, 200 мг в дни 1–21, 2-летняя ОБ и бессобытийная выживаемость (БСВ) составили 85,2% и 84,7% соответственно [33]. В настоящий момент проводится рандомизированное открытое исследование III фазы (NCT04161885) по оценке терапии по схеме «азацитидин и венетоклакс» у пациентов после трансплантации, находящихся в настоящее время в клинической ремиссии, набор пациентов проводится с февраля 2020 г., завершение исследования планируется в ноябре 2026 г.

Мутации *FLT3-ITD* встречаются у 25–40% пациентов с ОМЛ de novo. Ряд ИТК исследуется в качестве поддерживающей терапии после алло-ТГСК для пациентов ОМЛ с мутацией *FLT3-ITD*. *Мидостаурин* является первым ингибитором *FLT3*, одобренным для лечения ОМЛ в сочетании с химиотерапией. Улучшение результатов ОБ и БРВ на фоне приема мидостаурина также было отмечено у пациентов после алло-ТГСК. Исследование фазы II, оценивающее мидостаурин, в рамках поддерживающей терапии после алло-ТГСК показало низкую частоту рецидивов через 12 месяцев (9,2%).

В исследовании I фазы принимали участие 22 пациента ОМЛ с мутацией *FLT3-ITD* после алло-ТГСК, которым в качестве профилактической посттрансплантационной терапии был назначен *сорафениб*. БРВ через 1 год составляла 85%, а ОБ — 95% [8]. Механизм действия ИТК, нацеленных на *FLT3*, может выходить за рамки прямого уничтожения опухолевых клеток. Предполагают, что сорафениб может

взаимодействовать с аллогенными Т-клетками [22]. На нескольких мышиных моделях применение сорафениба увеличивало продукцию интерлейкина-15 (ИЛ-15) в лейкозных клетках, делая их более иммуногенными. Воздействие сорафениба снижало экспрессию активирующего транскрипционного фактора 4 (ATF4) в опухолевых клетках. ATF4 является негативным регулятором активации регуляторного фактора интерферона 7 (pIRF-7), который в своей активной форме усиливает транскрипцию ИЛ-15. Уровни pIRF-7 увеличились в обработанных сорафенибом опухолевых клетках, что позволяет предположить, что сорафениб может влиять на pIRF-7/ИЛ-15, уменьшая выработку ATF4 [22].

В настоящее время проводится III фаза крупного проспективного международного рандомизированного плацебо-контролируемого исследования, чтобы определить эффективность применения *гилтеритиниба* в качестве поддерживающей терапии после алло-ТГСК для пациентов с ОМЛ с мутацией *FLT3-ITD* в первой полной ремиссии [34].

Выбор конкретного ингибитора *FLT3* основывается на анамнестических данных (эффективность препарата на более ранних этапах лечения, переносимость препарата).

Таким образом, для профилактики рецидива заболевания у пациентов с ОМЛ из группы высокого риска с МОБ-негативным статусом после алло-ТГСК при условии полного донорского химеризма целесообразно использование следующих схем терапии:

● Мутации *FLT3* нет:

- ▲ Азациитидин, 32 мг/м²/сут п/к, 1—4-й дни курса ± ТЛД¹ в день 1. Следующий курс терапии начинается через 28 дней от первого дня предыдущего, суммарно 8 курсов.
- ▲ Децитабин, 10 мг/м²/сут в/в капельно, 1—5-й дни курса ± ТЛД¹ в день 1. Следующий курс терапии начинается через 6 недель от первого дня предыдущего, суммарно 6—8 курсов.
- ▲ Децитабин, 5 мг/сут первые два курса, далее эскалация дозы до 10 мг/сут в/в капельно в 1, 3 и 5-й дни курса + венетоклакс, 100 мг/сут первые два курса, далее эскалация дозы до 200 мг/сут внутрь, 1—5-й дни ± ТЛД¹ в день 1. Следующий курс терапии начинается через 28 дней от первого дня предыдущего, суммарно 8 курсов. В случае необходимости децитабин может быть заменен на азациитидин 30 мг/сут п/к первые два курса, далее эскалация дозы до 32 мг/м² п/к, также в 1, 3 и 5-й дни курса.

¹ Схема введения лимфоцитов донора будет приведена ниже в разд. «Иммуноопосредованное воздействие».

- ▲ Венетоклакс, 200 мг/сут внутрь, 1–21-й дни¹ + азациитидин, 32 мг/м²/сут п/к, 1–3-й дни, или децитабин, 15 мг/м²/сут в/в капельно, 1–3-й дни ± ТЛД¹ в день 1. Перерыв между курсами 2 месяца, суммарно 10 курсов.
- Мутация FLT3 есть:
 - ▲ Гилтеритиниб, 400 мг/сут, до +2 лет после алло-ТГСК.
 - ▲ Мидостаурин, 100 мг/сут, до +2 лет после алло-ТГСК.
 - ▲ Сорафениб, 800 мг/сут, до +2 лет после алло-ТГСК.

Как уже говорилось выше, крайне важно помнить, что у реципиентов костного мозга длительное время сохраняется высоким риск развития цитопении вплоть до аплазии кроветворения и несостоятельности трансплантата. В связи с этим необходимо регулярно оценивать показатели гемограммы и, в случае необходимости, редуцировать дозы и/или уменьшать длительность приема препаратов. На фоне проведения профилактической посттрансплантационной терапии развитие агранулоцитоза **опасно**.

Острый лимфобластный лейкоз, варианты посттрансплантационной профилактической терапии

В отличие от ОМЛ, у пациентов с ОЛЛ из группы высокого риска варианты для профилактики рецидивов после алло-ТГСК ограничены. На практике используется снижение дозы или ускоренная отмена иммуносупрессивной терапии, ТЛД, а также терапия ИТК (в случае Rh-положительного варианта заболевания). Для Rh-негативных ОЛЛ собственный опыт в проведении профилактической лекарственной терапии невелик.

Наиболее часто используемой стратегией профилактической посттрансплантационной терапии после алло-ТГСК при Rh-положительных ОЛЛ является *применение ИТК*. Первоначальные исследования с иматинибом показали, что его можно безопасно применять после алло-ТГСК без значимой миелосупрессии или неконтролируемых взаимодействий с ингибиторами кальциневрина [27]. В исследовании ЕВМТ 473 пациентов с Rh+ ОЛЛ в первой полной ремиссии, из которых 60 получали поддерживающую терапию с ИТК, прием иматиниба был независимо связан с более низкой частотой рецидивов и улучшением как БРВ, так и ОВ [4]. В ряде небольших ретроспективных исследований сообщалось об успешном лечении дазатинибом и нилотинибом [5, 30].

¹ Для оценки гематологической токсичности первый курс с использованием венетоклакса проводится в течение 7–10 дней. В случае цитопении последующие курсы не 21 день, а 14.

Пациентам с МОБ-позитивным статусом на момент выполнения алло-ТГСК в посттрансплантационном периоде показана терапия ИТК до +3 лет после алло-ТГСК. Выбор препарата основывается на анамнестических данных (эффективность препарата на более ранних этапах лечения, переносимость препарата). Предпочтение отдается дазатинибу, 140 мг/сут, в связи с тем, что он проникает через гематоэнцефалический барьер. В случае развития гематологической и негематологической токсичности доза препарата может быть редуцирована до 100 мг/сут и 70 мг/сут. В случае непереносимости дазатиниба допустима замена на альтернативный ИТК.

Для больных с Rh+ ОЛЛ в МОБ-негативном статусе перед алло-ТГСК в нашем центре продолжается рандомизированное исследование с целью оценки целесообразности применения ИТК для профилактики рецидива после алло-ТГСК в данной группе пациентов.

Согласно имеющимся литературным данным, для профилактики рецидива после алло-ТГСК у пациентов с Rh-негативным В-ОЛЛ могут быть использованы: блинатумомаб и инотузумаб озогамицин.

Блинатумомаб, биспецифичное антитело, препарат, активный в отношении рецидивирующего и рефрактерного ОЛЛ, использовался отдельно (блинатумомаб, по 9 мкг/сут в течение первых 7 дней и по 28 мкг/сут в последующие дни в течение 4 недель каждые 6 недель, суммарно 5 курсов) [31] или в сочетании с ТЛД (2 курса с непрерывной инфузией блинатумомаба в 1—28-й дни, в день 4 инфузия лимфоцитов донора) после алло-ТГСК для профилактики рецидивов заболевания [35]. В качестве профилактической посттрансплантационной терапии в исследовании II фазы в Онкологическом центре MD Anderson проводились четыре курса терапии блинатумомабом (28 мкг/сут с 1-го по 28-й день) каждые 3 месяца, начиная с 3-го месяца после алло-ТГСК. Медиана наблюдения составила 14,3 месяца с кумулятивной частотой рецидивов 29% (95% ДИ 11—49%). Однолетняя ОВ и выживаемость без прогрессирования (ВБП) составляли 85% и 71% соответственно [11]. Кроме того, существует также обоснование для комбинации блинатумомаба с другими агентами, такими как ингибиторы контрольных точек или ТЛД, для активации донорских Т-клеток и повышения эффективности терапии, однако этот подход может быть ограничен существенным увеличением риска острой угрожающей жизни РТПХ.

В качестве поддерживающей терапии после алло-ТГСК продолжаются исследования по использованию *инотузумаба озогамицина* в дозах 0,3 и 0,4 мг/м² в течение четырех 28-дневных курсов. В настоящее время продолжается исследование I фазы, в которое были включены 8 пациентов с ОЛЛ высокого риска. Первый год наблюдения после трансплантации завершили 4 пациента. Низкая доза инотузумаба озо-

гамицина хорошо переносилась, из нежелательных явлений отмечалась тромбоцитопения, что требовало снижения дозы препарата. [23].

Прогноз в случае развития рецидива Т-ОЛЛ после алло-ТГСК крайне неблагоприятен: только 10% пациентов выживают в течение 5 лет [1]. Доклинические исследования показали, что возможно эффективное использование венетоклакса для терапии рецидива Т-ОЛЛ [24]. В клинических условиях достоверных данных относительно поддерживающей терапии после трансплантации у пациентов с диагнозом Т-ОЛЛ недостаточно. Четыре пациента с Т-ОЛЛ высокого риска получали поддерживающую терапию азацитидином и венетоклаксом после алло-ТГСК с обнадеживающими результатами, все они оставались в полной ремиссии с медианой наблюдения 15 месяцев [15]. В китайском исследовании оценивалось использование низких доз децитабина в качестве поддерживающей терапии после трансплантации у пациентов с Т-ОЛЛ, ни у одного из семи пациентов, получавших лечение, не было рецидива [20].

В настоящее время *CAR-T-клеточная терапия* представляет собой перспективный метод лечения онкогематологических заболеваний. Проводятся клинические исследования для определения места и роли CAR-T-клеточной терапии для пациентов после алло-ТГСК, но преимущественно для лимфоидных вариантов заболевания. Вопрос применения методики в качестве профилактики рецидива остается открытым. В подавляющем большинстве публикаций описываются случаи проведения клеточной терапии для достижения МОБ-негативности или в качестве лечения молекулярного рецидива после алло-ТГСК [7, 21]. Мы же стоим на той позиции, что МОБ-позитивный статус пациента после алло-ТГСК (иммунофенотипически или молекулярной меткой) следует расценивать как повод для начала лечения рецидива, а не его профилактики.

Предлагаемые схемы профилактики рецидива ОЛЛ после алло-ТГСК при условии полного донорского химеризма:

- Ph+, Ph-like (*IKZF1*, *PDGFRα*, *PDGFRβ*, *CRLF2*, *JAK2*, *ABL1*, *ABL2*, *EPOR*, *CSF1R*) вариант ОЛЛ:
 - ▲ Иматиниб, 400—600 мг/сут ежедневно, до +3 лет после алло-ТГСК.
 - ▲ Дазатиниб, 70—140 мг/сут ежедневно, до +3 лет после алло-ТГСК.
 - ▲ Нилотиниб, 400—600 мг/сут ежедневно, до +3 лет после алло-ТГСК.
 - ▲ Альтернативный ИТК в зависимости от эффективности на этапах до алло-ТГСК.
 - ▲ Руксолитиниб, 20 мг/сутки ежедневно, до +3 лет после алло-ТГСК.

- Ph-негативный вариант В-клеточного ОЛЛ с мутацией в гене *FLT3*:
 - ▲ Гилтеритиниб, 400 мг/сут, до +2 лет после алло-ТГСК.
 - ▲ Мидостаурин, 100 мг/сут, до +2 лет после алло-ТГСК.
 - ▲ Сорафениб, 800 мг/сут, до +2 лет после алло-ТГСК.
- Ph-негативный вариант В- или Т-клеточного ОЛЛ с мутацией в генах *KRAS/NRAS*:
 - ▲ Сорафениб, 800 мг/сут, до +2 лет после алло-ТГСК.
 - ▲ Траметиниб, 2 мг/сут, до +2 лет после алло-ТГСК.
- Т-клеточный вариант ОЛЛ:
 - ▲ Децитабин, 10 мг/сут, 1, 3 и 5-й дни курса в/в капельно ± ТЛД в день 1. Следующий курс терапии начинается через 28 дней от первого дня предыдущего, суммарно 8 курсов.
 - ▲ Децитабин, 5 мг/сут первые два курса, далее эскалация дозы до 10 мг/сут в/в капельно в 1, 3 и 5-й дни курса + венетоклакс, 100 мг/сут первые два курса, далее эскалация дозы до 200 мг/сут внутрь, 1—5-й дни ± ТЛД в день 1. Следующий курс терапии начинается через 28 дней от первого дня предыдущего, суммарно 8 курсов. В случае необходимости децитабин может быть заменен на азациитидин, 30 мг/сут п/к первые два курса, далее эскалация дозы до 32 мг/м² п/к, также в 1, 3 и 5-й дни курса.
 - ▲ Венетоклакс, 200 мг/сут внутрь первые два курса, далее эскалация дозы до 400 мг/сут, 1—21-й дни курса ± ТЛД в день 1. Перерыв между курсами 2 месяца, суммарно 10 курсов.
- Т-клеточный вариант ОЛЛ:
 - ▲ Венетоклакс, 200 мг/сут внутрь первые два курса, далее эскалация дозы до 400 мг/сут, 1—21-й дни курса ± ТЛД в день 1. Перерыв между курсами 2 месяца, суммарно 10 курсов.

Иммуноопосредованное воздействие

Трансфузии неманипулированных лимфоцитов донора широко применяют у больных после алло-ТГСК: смешанный химеризм, лечение парциальной красноклеточной аплазии, гипофункции трансплантата, профилактика и превентивное лечение рецидивов [9, 32].

Эффективность и уникальность алло-ТГСК определяется феноменом РТПЛ, в результате чего происходит элиминация оставшегося опухолевого клона с помощью аллоиммунных эффекторных лимфоцитов [18]. ТЛД является иммунотерапией, которая усиливает РТПЛ. По данным одного из исследований, 2-летняя ОВ составила 55% у пациентов с полной ремиссией, получавших инфузию донорских лимфоцитов или повторную трансплантацию, по сравнению с 20% у пациентов без лечения донорскими клетками [26]. Основным осложнением данного

метода является РТПХ. Для уменьшения риска развития РТПХ проводить ТЛД следует не ранее чем спустя 3 месяца после трансплантации. Это связано с тем, что в течение первых 6 месяцев происходит постепенное восстановление тканей, поврежденных во время предтрансплантационного кондиционирования, а также формируется иммунологическая толерантность клеток донора к клеткам реципиента. В связи с этим введение лимфоцитов донора позднее чем через 3 месяца после алло-ТГСК не приводит к увеличению рисков тяжелой РТПХ.

Иммунотерапию лимфоцитами донора следует назначать только при отсутствии неконтролируемых инфекционных осложнений и клинических проявлений РТПХ [13].

В качестве профилактики развития рецидива заболевания применение неманипулированных лимфоцитов донора возможно в различных дозах, а также в комбинации с химиотерапевтическими препаратами или без них, что, по данным различных авторов, улучшает общую и безрецидивную выживаемость [10, 28].

Дозы неманипулированных лимфоцитов донора для профилактики рецидива острого лейкоза у пациентов из группы высокого риска в зависимости от вида трансплантации [10, 13, 14]:

- Трансплантация от полностью совместимого донора (родственного или неродственного) — $1 \times 10^6/\text{кг}$ веса реципиента CD3+ клеток.
- Трансплантация от частично совместимого донора (родственного или неродственного) — $1 \times 10^5/\text{кг}$ веса реципиента CD3+ клеток.

В табл.1 указано количество CD3+ клеток при проведении профилактической терапии по программе «Азацитидин + ТЛД». Дозы лимфоцитов были скорректированы по результатам обработки полученных данных клинической апробации (КА 2017-47-4 и КА 2019-47-8).

Таблица 1. Количество CD3+ клеток при проведении профилактической терапии по программе «Азацитидин + ТЛД»

Донор	Номер курса в рамках профилактической терапии по программе «Азацитидин + ТЛД», срок после алло-ТГСК			
	1-й, день 60	2-й, день 90	3-й, день 120	4-й, день 150
Родственный HLA-идентичный	$1 \times 10^6/\text{кг}$	$1 \times 10^6/\text{кг}$	$1 \times 10^6/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$
Неродственный HLA-идентичный	$1 \times 10^6/\text{кг}$	$1 \times 10^6/\text{кг}$	$1 \times 10^6/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$
Неродственный частично совместимый	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^4/\text{кг}$
Родственный гаплоидентичный	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^4/\text{кг}$

Таблица 1 (окончание). Количество CD3+ клеток при проведении профилактической терапии по программе «Азацитидин + ТЛД»

Донор	Номер курса в рамках профилактической терапии по программе «Азацитидин + ТЛД», срок после алло-ТГСК			
	5-й, день 180	6-й, день 210	7-й, день 240	8-й, день 270
Родственный HLA-идентичный	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$
Неродственный HLA-идентичный	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$	$1 \times 10^5/\text{кг}$
Неродственный частично совместимый	$1 \times 10^4/\text{кг}$	$1 \times 10^4/\text{кг}$	$1 \times 10^4/\text{кг}$	$1 \times 10^4/\text{кг}$
Родственный гаплоидентичный	$1 \times 10^4/\text{кг}$	$1 \times 10^4/\text{кг}$	$1 \times 10^4/\text{кг}$	$1 \times 10^4/\text{кг}$

Объем заготавливаемого клеточного продукта. С учетом вида трансплантации принимается решение о количестве заготавливаемых для профилактической терапии контейнеров с лимфоцитами донора и о количестве CD3+ клеток в каждом контейнере. Рекомендованное количество контейнеров и число CD3+ клеток:

- HLA-идентичный донор (родственный/неродственный): 5 контейнеров, в каждом по 1×10^5 CD3+ клеток на 1 кг веса реципиента, и 5 контейнеров, в каждом по 1×10^6 CD3+ клеток на 1 кг веса реципиента;
- частично совместимый донор (родственный/неродственный): 5 контейнеров, в каждом по 1×10^4 CD3+ клеток на 1 кг веса реципиента, и 5 контейнеров, в каждом по 1×10^5 CD3+ клеток на 1 кг веса реципиента.

Процедура введения лимфоцитов донора. Перед инфузией лимфоцитов донора проводится премедикация антигистаминными препаратами. Криоконсервированный продукт размораживается на водяной бане или в программном размораживателе при температуре 37 °С. Объем клеточной взвеси в криоконтейнере в среднем составляет 2 мл. В связи малым объемом для технологического удобства размороженный продукт набирают в шприц через толстую иглу 18G и доводят физиологическим раствором до объема 20 мл. Трансфузию лимфоцитов проводят в/в струйно очень медленно через имеющийся венозный доступ периферический или центральный. После завершения введения лимфоцитов проводится инфузия 250—500 мл физиологического раствора через тот же венозный доступ. После завершения всех манипуляций пациент находится под наблюдением медицинского персонала в течение 2 часов. За это время дважды оценивают показатели гемодинамики, температуру тела пациента, а также объем и цвет мочи.

В зависимости от выбранной схемы профилактической терапии число запланированных ТЛД варьирует. Если речь идет о монотерапии лимфоцитами донора, то среднем проводят 4 ТЛД с периодичностью 1 раз в месяц. Однако число введений может меняться в зависимости от переносимости, в первую очередь от наличия клиники РТПХ. Развитие клиники РТПХ является поводом для прекращения ТЛД.

В случае профилактического введения лимфоцитов донора снижение доз иммуносупрессивных препаратов проводится в плановом порядке согласно стандартному протоколу алло-ТГСК под контролем клинических проявлений РТПХ.

Литература

1. Baek DW, Lee JM, Kim J et al. Therapeutic strategies, including allogeneic stem cell transplantation, to overcome relapsed/refractory adult T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Expert Rev Hematol* 2021; 14(8):765—775.
2. Bejanyan N, Weisdorf DJ, Logan BR et al. Survival of patients with acute myeloid leukemia relapsing after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a Center for International Blood and Marrow Transplant Research study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(3):454—459.
3. Bewersdorf JP, Allen C, Mirza AS et al. Hypomethylating agents and FLT3 inhibitors as maintenance treatment for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation — a systematic review and meta-analysis. *Transplant Cell Ther* 2021; 27(12):997.e1—997.e11.
4. Brissot E, Labopin M, Beckers MM et al. Tyrosine kinase inhibitors improve long-term outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2015; 100(3):392—399.
5. Caocci G, Vacca A, Ledda A et al. Prophylactic and preemptive therapy with dasatinib after hematopoietic stem cell transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(4):652—654.
6. Choi J, Ritchey J, Prior JL et al. In vivo administration of hypomethylating agents mitigate graft-versus-host disease without sacrificing graft-versus-leukemia. *Blood* 2010; 116(1):129—139.
7. Cui Q, Qian C, Xu N et al. CD38-directed CAR-T cell therapy: a novel immunotherapy strategy for relapsed acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Hematol Oncol* 2021; 14(1):82.
8. DeFilipp Z, Langston AA, Chen Z et al. Does post-transplant maintenance therapy with tyrosine kinase inhibitors improve outcomes of patients with high-risk Philadelphia chromosome-positive leukemia? *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2016; 16(8):466—471.e1.

9. Deol A, Lum LG. Role of donor lymphocyte infusions in relapsed hematological malignancies after stem cell transplantation revisited. *Cancer Treat Rev* 2010; 36(7):528—538.
10. Dholaria B, Savani BN, Labopin M et al. Clinical applications of donor lymphocyte infusion from an HLA-haploidentical donor: Consensus recommendations from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Haematologica* 2020; 105(1):47—58.
11. Gaballa MR, Banerjee P, Milton DR et al. Blinatumomab maintenance after allogeneic hematopoietic cell transplantation for B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2022; 139(12):1908—1919.
12. Goodyear OC, Dennis M, Jilani NY et al. Azacitidine augments expansion of regulatory T cells after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2012; 119(14):3361—3369.
13. Greiner J, Götz M, Bunjes D et al. Immunological and clinical impact of manipulated and unmanipulated DLI after allogeneic stem cell transplantation of AML patients. *J Clin Med* 2019; 9(1):39.
14. Guillaume T, Thépot S, Peterlin P et al. Prophylactic or preemptive low-dose azacitidine and donor lymphocyte infusion to prevent disease relapse following allogeneic transplantation in patients with high-risk acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *Transplant Cell Ther* 2021; 27(10): 839.e1—839.e6.
15. Hassan MA, Moukalled N, El Cheikh J et al. Azacitidine in combination with venetoclax maintenance post-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Clin Hematol Int* 2023; 5(1):52—55.
16. Huang XJ, Liu DH, Liu KY et al. Treatment of acute leukemia with unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15(2):257—265.
17. Kent A, Schwartz M, McMahon C et al. Venetoclax is safe and tolerable as post-transplant maintenance therapy for AML patients at high risk for relapse. *Bone Marrow Transplant* 2023; 58(8):849—854.
18. Kolb HJ, Schmid C, Barrett AJ, Schendel DJ. Graft-versus-leukemia reactions in allogeneic chimeras. *Blood* 2004; 103(3):767—776.
19. de Lima M, Giral S, Thall PF et al. Maintenance therapy with low-dose azacitidine after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for recurrent acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome: a dose and schedule finding study. *Cancer* 2010; 116(23):5420—5431.
20. Liu J, Jiang ZX, Xie XS et al. Maintenance treatment with low-dose decitabine after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with adult acute lymphoblastic leukemia. *Front Oncol* 2021; 11:710545.
21. Liu J, Zhong JF, Zhang X, Zhang C. Allogeneic CD19-CAR-T cell infusion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in B cell malignancies. *J Hematol Oncol* 2017; 10(1):35.
22. Mathew NR, Baumgartner F, Braun L et al. Sorafenib promotes graft-versus-leukemia activity in mice and humans through IL-15 production in FLT3-ITD-mutant leukemia cells. *Nat Med* 2018; 24(3):282—291.

23. Metheny L, Sobecks R, Tomlinson BK et al. Inotuzumab ozogamicin post-transplant for acute lymphocytic leukemia. *Blood* 2019; 134:1948—1948.
24. Peirs S, Matthijssens F, Goossens S et al. ABT-199 mediated inhibition of BCL-2 as a novel therapeutic strategy in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014; 124(25):3738—3747.
25. Pusic I, Choi J, Fiala MA et al. Maintenance therapy with decitabine after allogeneic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(10):1761—1769.
26. Rautenberg C, Germing U, Haas R et al. Relapse of acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation: Prevention, detection, and treatment. *Int J Mol Sci* 2019; 20(1):228.
27. Ribera JM, Oriol A, González M et al. Concurrent intensive chemotherapy and imatinib before and after stem cell transplantation in newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. Final results of the CSTIBES02 trial. *Haematologica* 2010; 95(1):87—95.
28. Schmid C, Labopin M, Schaap N et al. Prophylactic donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation in acute leukaemia – a matched pair analysis by the Acute Leukaemia Working Party of EBMT. *Br J Haematol* 2019; 184(5):782—787.
29. Su Q, Fan Z, Huang F et al. Comparison of two strategies for prophylactic donor lymphocyte infusion in patients with refractory/relapsed acute leukemia. *Front Oncol* 2021; 11:554503.
30. Teng CL, Yu JT, Chen HC, Hwang WL. Maintenance therapy with dasatinib after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Ann Hematol* 2013; 92(8):1137—1139.
31. Topp MS, Gökbüget N, Stein AS et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015; 16(1):57—66.
32. Toprak SK. Donor lymphocyte infusion in myeloid disorders. *Transfus Apher Sci* 2018; 57(2):178—186.
33. Wei Y, Xiong X, Li X et al. Low-dose decitabine plus venetoclax is safe and effective as post-transplant maintenance therapy for high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Cancer Sci* 2021; 112(9):3636—3644.
34. A trial of the FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) inhibitor gilteritinib administered as maintenance therapy following allogeneic transplant for patients with FLT3/internal tandem duplication (ITD) acute myeloid leukemia (AML). Bethesda (MD): U.S. National Library of Medicine; 2016. URL: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02997202>.
35. Allogeneic donor lymphocyte infusions combined with blinatumomab. Bethesda (MD): U.S. National Library of Medicine; 2019. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03982992>.

**Трансплантация аллогенных
гемопоэтических стволовых клеток.
Практическое руководство**

Научные редакторы д. м. н. Е. Н. Паровичникова,
д. м. н. Т. В. Гапонова, к. м. н. М. Ю. Дроков
Редакторы к. м. н. В. А. Ананич, к. б. н. Н. В. Первухова
Технический редактор В. Ю. Кознов
Оформление обложки Л. Е. Канивченко
Подготовка иллюстраций Ю. Г. Косовская
Корректор В. А. Алексеев

Издательский дом «Практика»
119048, Москва, а/я 421. Тел. (495) 921-22-04
Электронная почта: practica@practica.ru. Сайт: www.practica.ru
Подписано в печать 29.02.2024. Формат 60 × 90/16
Тираж 1500 экз. Заказ №

Отпечатано в АО «Первая Образцовая типография»,
филиал «УЛЬЯНОВСКИЙ ДОМ ПЕЧАТИ»
432980, г. Ульяновск, ул. Гончарова, 14