

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

РУДАКОВА

Татьяна Александровна

ФАКТОРЫ РИСКА, КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ  
ГИПОФУНКЦИИ АЛЛОГЕННОГО ТРАНСПЛАНТАТА  
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ВЗРОСЛЫХ

14.01.21 – гематология и переливание крови

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель  
Кулагин Александр Дмитриевич  
доктор медицинских наук, доцент

Санкт-Петербург – 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ.....	10
<b>1.1. Определение гипофункции трансплантата после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2. Общие механизмы развития гипофункции трансплантата .....</b>	<b>13</b>
<b>1.3. Частные механизмы гипофункции трансплантата.....</b>	<b>25</b>
1.3.1. Гипофункция трансплантата на фоне реакции «трансплантат-против-хозяина».....	25
1.3.2. Гипофункция трансплантата на фоне инфекционного процесса.....	28
1.3.3. Механизм гипофункция трансплантата при гиперспленизме.....	33
1.3.4. Гипофункция трансплантата и эндотелиопатии.....	35
1.3.5. Гипофункция трансплантата и аутоиммунные цитопении .....	36
1.3.6. Механизм лекарственно-ассоциированной ГФТ.....	37
<b>1.4. Варианты профилактики и терапии гипофункции трансплантата .....</b>	<b>40</b>
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	48
<b>2.2. Определения, ключевые точки .....</b>	<b>51</b>
<b>2.3. Характеристика доноров гемопоэтических стволовых клеток.....</b>	<b>54</b>
<b>2.4. Режимы подготовки к аллогенной ТГСК .....</b>	<b>56</b>
<b>2.5. Профилактика реакции «трансплантат-против-хозяина».....</b>	<b>57</b>
<b>2.6. Применение агонистов тромбопоэтина у пациентов с тяжелой ГФТ после алло-ТГСК .....</b>	<b>58</b>
<b>2.7. Статистический анализ.....</b>	<b>59</b>
ГЛАВА 3. ЧАСТОТА, ХАРАКТЕРИСТИКА И ИСХОДЫ ТЯЖЕЛОЙ ГФТ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК.....	61
<b>3.1. Частота тяжелой гипофункции трансплантата в общей когорте ..</b>	<b>61</b>
<b>3.2. Клиническая характеристика тяжелой гипофункции трансплантата .....</b>	<b>62</b>
<b>3.3. Исходы тяжелой гипофункции трансплантата.....</b>	<b>66</b>

<b>3.4. Трансплантационная летальность и общая выживаемость при тяжелой гипофункции трансплантата.....</b>	<b>70</b>
<b>ГЛАВА 4. ФАКТОРЫ РИСКА ТЯЖЕЛОЙ ГИПОФУНКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА.....</b>	<b>722</b>
<b>4.1. Факторы риска тяжелой ГФТ и сопутствующие состояния.....</b>	<b>72</b>
<b>4.2. Однофакторный анализ потенциальных предикторов и посттрансплантационных факторов, ассоциированных с тяжелой ГФТ .....</b>	<b>74</b>
<b>4.3. Многофакторный анализ потенциальных предикторов посттрансплантационных факторов, ассоциированных с тяжелой ГФТ .....</b>	<b>78</b>
<b>5.1. Ретроспективный анализ терапии тяжелой гипофункции.....</b>	<b>79</b>
<b>трансплантата .....</b>	<b>79</b>
<b>5.2. Анализ эффективности применения агонистов рецепторов .....</b>	<b>87</b>
<b>тромбопоэтина.....</b>	<b>87</b>
<b>ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>93</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>102</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>105</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....</b>	<b>106</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>110</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Более чем за 50-летнюю историю аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) перешла из разряда терапевтической опции для узкого круга иначе некурабельных заболеваний в стандарт терапии при целом ряде нозологий [1, 3, 20, 21, 66, 72]. Недостаточность трансплантата входила в список основных проблем после аллогенной ТГСК в прошлом и остается актуальной проблемой в настоящее время. Частота недостаточности трансплантата после аллогенной ТГСК по данным литературы варьирует от 1% до 30% [58, 136]. В ранних работах недостаточность трансплантата подразделялась на первичную и вторичную. В последнее время в связи с более глубоким изучением патогенетических механизмов и сложностью точного определения механизмов патогенеза в конкретной клинической ситуации терминология этого состояния стала меняться. Были предложены термины «ранняя» и «поздняя» недостаточность, однако ни в мировой, ни в отечественной литературе в настоящее время не существует устоявшейся терминологии для четкого описания имеющихся клинических ситуаций, связанных с недостаточностью трансплантата после аллогенной ТГСК [86].

Гипофункцией трансплантата (ГФТ) называют посттрансплантационные цитопении, возникающие после документированного приживления при условии сохраняющегося донорского химеризма и отсутствии признаков основного заболевания [73].

Большинство исследований гипофункции трансплантата проводилось в ретроспективных исследованиях с использованием классических режимов кондиционирования и профилактики реакции «трансплантат-против-хозяина» (РТПХ), в то время как в последние годы все более широкое распространение получили режимы кондиционирования с посттрансплантационным циклофосфамидом в качестве профилактики РТПХ [137, 166, 186].

Характеристики и сведения о частоте гипофункции трансплантата после приживления являются разноречивыми, и такие состояния охарактеризованы недостаточно как в контексте клинической манифестации и исходов, так и с точки зрения оптимальной тактики лечения.

Всестороннюю характеристику гипофункции трансплантата после алло-ТГСК ограничивают различия в дизайне исследований и критериев диагностики данного состояния, недостаточное количество наблюдений, отсутствие данных об отдаленных исходах. Несмотря на то, что авторы сходятся на том, что когорта пациентов с гипофункцией трансплантата имеет неудовлетворительный прогноз, отдаленные исходы гипофункции трансплантата до настоящего времени были описаны лишь в отдельных работах и большей частью охарактеризованы в смешанной группе с первичным неприживлением [186].

Несмотря на многочисленные публикации, предлагающие различные подходы к лечению гипофункции трансплантата: отмена или усиление иммуносупрессивной терапии, ростовые факторы, трансфузии донорских лимфоцитов (ТДЛ), мезенхимных клеток, повторные трансфузии как селектированных, так и неселектированных CD34+ клеток без режима кондиционирования, повторная ТГСК, до сих пор отсутствуют стандарты применения тех или иных методов лечения ГФТ. Значительные затраты на лечение и нередкие неблагоприятные исходы ГФТ, включая летальность от инфекционных и геморрагических осложнений глубокой цитопении, диктуют необходимость дальнейшего изучения проблемы. Оптимальный алгоритм терапевтической тактики остается предметом обсуждения.

**Цель исследования.** Изучить особенности клинических проявлений, факторы риска и исходы при различных вариантах тяжелой гипофункции трансплантата (тГФТ) после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и разработать тактику терапии с включением агонистов рецептора тромбopoэтина.

### **Задачи исследования**

1. Оценить с применением строгих критериев кумулятивную частоту развития тГФТ у взрослых пациентов после алло-ТГСК.
2. Охарактеризовать спектр клинических проявлений и исходы тГФТ.
3. Оценить роль тГФТ в частоте трансплантационной летальности и долгосрочной общей выживаемости пациентов после алло-ТГСК.
4. Выявить предтрансплантационные и посттрансплантационные факторы риска развития тГФТ.
5. Ретроспективно оценить эффективность использованных методов лечения тГФТ.
6. Проспективно изучить эффективность терапии тГФТ агонистами рецептора тромбопоэтина.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Тяжелая ГФТ является редким осложнением после аллогенной ТГСК и имеет неблагоприятный прогноз. Отторжение трансплантата не является наиболее частым исходом тГФТ. Ведущей причиной летальности при тГФТ являются инфекционные осложнения.
2. Миелопролиферативные заболевания, гаплоидентичный донор, вирусные инфекции и сепсис являются независимыми факторами развития тГФТ.
3. Персистенция тГФТ более трех недель на фоне проводимой терапии ухудшает общую выживаемость после алло-ТГСК. Раннее принятие решения о повторной ТГСК с или без режима кондиционирования может улучшить выживаемость в данной группе пациентов.
4. Агонисты рецептора ТПО являются эффективным и безопасным методом терапии тГФТ. Учитывая многофакторную природу тГФТ, применение агонистов рецептора ТПО возможно на раннем этапе терапии независимо от этиологии и патогенеза тГФТ.

**Научная новизна.** Впервые в крупной репрезентативной когорте взрослых пациентов с длительным сроком наблюдения проанализирована частота тяжелой гипофункции трансплантата после алло-ТГСК, охарактеризованы структура и исходы тяжелой гипофункции трансплантата, влияние тяжелой гипофункции трансплантата на основные параметры эффективности алло-ТГСК.

В ходе данной работы впервые произведена оценка влияния различных предтрансплантационных характеристик реципиента и донора, а также посттрансплантационных состояний на частоту тГФТ, в результате чего выявлены прогностически значимые факторы.

Впервые комплексно проанализирована терапевтическая тактика в реальной клинической практике при тГФТ. Впервые продемонстрировано влияние скорости ответа на проводимую терапию на разрешение данного осложнения.

Получены оригинальные данные об эффективности использования агонистов рецептора тромбопоэтина (рТПО) в посттрансплантационном периоде. В том числе впервые показана эффективность агонистов рТПО у пациентов с ОРТПХ III-IV степени.

**Практическая значимость исследования.** Практическая значимость диссертации заключается в разработке и внедрении в клиническую практику алгоритма прогнозирования, дифференциальной диагностики и лечения тяжелой гипофункции трансплантата с целью повышения эффективности алло-ТГСК. Детально изучен вклад различных факторов до и после алло-ТГСК в возникновение тГФТ, что позволяет выделить группы риска и в дальнейшем разработать и оптимизировать терапевтическую тактику в этих группах. Предложенный алгоритм направлен на более активную тактику терапии, в особенности у пациентов, относящихся к неблагоприятной группе, что позволяет достигать улучшения общей выживаемости, а также снижения летальности, ассоциированной с алло-ТГСК.

**Внедрение результатов исследования.** Основные положения диссертации внедрены в практическую и научно-исследовательскую деятельность НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Областного гематологического центра государственного бюджетного учреждения Свердловской областной клинической больницы № 1, Онкогематологического отделения №2 государственного бюджетного учреждения «Ленинградская областная клиническая больница», отделения гематологии и трансплантации костного мозга Клиники иммунопатологии ФГБНУ "НИИ фундаментальной и клинической иммунологии", г. Новосибирск.

**Методология и методы исследования.** Научная методология исследования основывалась на системном подходе к изучаемой проблеме и комплексном рассмотрении процессов патогенеза и клинических проявлений посттрансплантационных цитопений. В работе использованы клинические, статистические и общенаучные методы исследования (наблюдение, измерение, построение гипотезы).

**Степень достоверности и апробация результатов.** Основные теоретические и практические материалы диссертации представлены в постерных докладах на 43, 44 ежегодных симпозиумах Европейской группы по трансплантации крови и костного мозга (Лиссабон, 2018; Франкфурт-на-Майне, 2019); X, XI, XII международных симпозиумах, посвященных памяти Р.М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей и взрослых» (Санкт-Петербург, 2016-2019); в виде доклада на IV Конгрессе гематологов России (Москва, 2018). По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК. Подготовленная база данных «Факторы риска недостаточности трансплантата у пациентов



после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток» получила государственную регистрацию (свидетельство №2016620723 от 02.06.2016).

**Личное участие автора.** Личное участие автора в получении научных результатов, излагаемых в диссертации, осуществлялось на всех этапах работы, включая ведение и консультирование пациентов, проведение анализа ретроспективных данных, составление электронной базы данных и проведения статистической обработки, проведения анализа и оформления результатов исследования. Лабораторные исследования непосредственно автором не проводились. Автором подготовлены публикации по результатам исследования.

**Структура работы.** Материалы диссертации изложены на 137 страницах, содержат 10 таблиц и 19 рисунков. Указатель источников включает 26 отечественных и 206 зарубежных источника. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, глав с изложением собственных результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

### **1.1. Определение гипофункции трансплантата после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток**

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), в качестве эффективного метода лечения, является неотъемлемой частью многих современных протоколов терапии как злокачественных заболеваний системы крови и солидных опухолей, так и ряда наследственных заболеваний [3, 5, 9, 20, 21, 72, 171, 192]. Недостаточность трансплантата при ТГСК является серьезным осложнением, ухудшающим результаты ТГСК [5, 19, 167, 211].

Словом «недостаточность» в медицине описывается целый ряд состояний, при которых нарушается работа того или иного органа или системы, независимо от причин к этому приводящих. В связи с этим логичным представляется использование именно этого термина и в отношении работы трансплантата после алло-ТГСК. Несмотря на то, что различные варианты цитопений в посттрансплантационном периоде достаточно хорошо изучены, в мировой литературе в настоящее время не существует устоявшейся терминологии для четкого описания имеющихся клинических ситуаций, связанных с недостаточностью трансплантата после алло-ТГСК.

Наиболее часто в публикациях встречаются следующие термины для обозначения одного и того же состояния: «первичная недостаточность трансплантата», «(первичное) неприживание трансплантата», «(первичное) отторжение трансплантата», «плохое функционирование трансплантата», «ранняя и поздняя недостаточность трансплантата» [58, 87, 146, 167, 209, 211].

Исходя из классического определения, представленного The European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), приживание трансплантата регистрируется в первый из трех дней, когда абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов (АЧН) составляет более  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  [185, 216]. Дру-

гим необходимым аспектом приживления является достижение донорского химеризма [38, 61, 83].

Классические критерии приживления были разработаны задолго до расширения показаний к алло-ТГСК, появления новых режимов кондиционирования и профилактики реакции «трансплантат-против-хозяина», а также таргетных препаратов, используемых в посттрансплантационном периоде. В новых условиях появляются отличия в динамике восстановления гемопоэза, а именно увеличение сроков при, например, применении посттрансплантационного циклофосфида в качестве профилактики реакции «трансплантат-против-хозяина» [151].

Клинически недостаточность трансплантата ГСК проявляется цитопенией в различных ростках гемопоэза и их осложнениями (анемией, геморрагическим синдромом, нейтропеническими инфекциями).

По данным мировой литературы сведения о частоте недостаточности трансплантата разнятся. Это связано, прежде всего, с неоднородностью критериев и сложностью разграничения между первичной, вторичной недостаточностью трансплантата (в англоязычной литературе – «graft failure») и плохим функционированием трансплантата («poor graft function»). «Плохое функционирование трансплантата», как сохранение или развитие цитопении после документированного приживления, стало выделяться авторами относительно недавно [165].

Первичная недостаточность трансплантата имеет место у 3,8-10% пациентов [64, 167], получивших аллогенную ТГСК, в то время как «плохая функция трансплантата» встречается у 5-40% пациентов [133, 163]. Однако эти данные также не являются окончательными в связи с тем, что в разных исследованиях применялись разные критерии определения «плохой функции трансплантата».

Случаи плохого функционирования трансплантата являются наиболее гетерогенной группой в связи с тем, что сниженная функция трансплантата

после алло-ТГСК может быть результатом как невозможности достичь трехлинейного восстановления кроветворения – первичное плохое функционирование трансплантата, так и снижения гемопоэза после инициального приживления и нормального функционирования – вторичное плохое функционирование трансплантата [165, 166]. Кроме того, этиологические факторы плохого функционирования трансплантата могут быть как первичными (иммунными), так и вторичными (например, инфекции, медикаментозные воздействия) [133]. В данной работе в связи с невозможностью разграничить эти состояния используется общий термин «гипофункция трансплантата» (ГФТ).

Приведенные выше данные о частоте ГФТ включают в себя как первичное неприживление, так и разные формы вторичной дисфункции трансплантата [122, 136, 164, 207]. Важным критерием ГФТ является сохранение донорского химеризма, что отличает ее от вторичной недостаточности и отторжения трансплантата. При этом критериальный уровень донорского химеризма сильно варьирует в разных исследованиях и определениях (от >5% в последнем руководстве EBMT до полного) [211, 217]. В настоящее время, несмотря на то, что ГФТ стала выделяться в отдельную проблему в рамках ТГСК, детальная клиническая характеристика строго определенной ГФТ отсутствует. Структура ГФТ, а именно соотношение вовлеченных линий гемопоэза, их сочетаний и другие характеристики, не описана, что является следствием отсутствия единых критериев определения данной проблемы.

Отдельным вопросом остается изучение исходов и отдаленного прогноза тГФТ, в связи с тем, что существуют лишь единичные исследования на эту тему [131, 133, 187].

Большое клиническое значение данного осложнения, а также недостаточная изученность частоты, факторов риска, клинических манифестаций, методов профилактики и терапии тГФТ определили главную цель данного исследования.

## 1.2. Общие механизмы развития гипофункции трансплантата

Гипофункция трансплантата – это процесс, индуцируемый множеством факторов и имеющий разные варианты реализации. Механизмы некоторых сценариев развития гипофункции хорошо изучены, однако в настоящее время отсутствует детальное описание всех путей развития ГФТ.

Можно выделить иммунные и неиммунные механизмы развития ГФТ, причем пусковые факторы могут быть сходными в обоих случаях. К иммунным механизмам можно условно отнести: нарушение хоуминга, повреждение стромы, дефекты пролиферации донорских ГСК, нарушение гемопоэза при РТПХ, аутоиммунные цитопении (в том числе, парциальную красно-клеточную аплазию), а также цитопении, ассоциированные с инфекцией как вирусной, так и бактериальной (в том числе вторичный гемофагоцитарный синдром, сепсис), гаптенные цитопении [8, 14, 15, 104, 190, 192].

Из неиммунных вариантов можно выделить прямое цитотоксическое воздействие некоторых лекарственных средств, индукция апоптоза вирусами, депонирование и разрушение элементов крови в увеличенной селезенке, агрегация и потребление тромбоцитов при сепсисе [28, 29, 37, 46, 95].

Учитывая тесную связь и вовлечение клеточных и гуморальных путей при развитии ГФТ, в настоящее время не всегда удастся проследить четкую корреляцию между конкретным механизмом ГФТ и клинической реализацией этого состояния. Остается неясным вклад каждого из обозначенных механизмов в реальной клинической ситуации.

Гемопоэз зависит от специализированного микроокружения костного мозга, известного как «ниши», в которых находятся ГСК, а также он зависит от функционального взаимодействия между ГСК и этими нишами [2, 130, 194]. Эндоостальные клетки костного мозга и периваскулярные клетки считаются основными элементами, поддерживающими гемопоэз в микроокружении костного мозга [7, 23]. Гемопозитическая костномозговая ниша представляет собой сложный комплекс из адипоцитов, эндотелиальных клеток,

мегакариоцитов, гетерогенных стромальных клеток, макрофагов, остеобластов, симпатических нервов, все составляющие которого являются важными компонентами поддержания гомеостаза. Другими клеточными компонентами среды костного мозга являются регуляторные Т-клетки (T-reg), CXCL12-положительные ретикулярные клетки и эндотелиальные/синусоидальные клетки [191].

Механизмы гипofункции трансплантата могут включать в себя нарушение процессов хоуминга. Хоуминг является первым и довольно быстрым процессом (измеряется в часах и занимает не более 1-2 дней), в котором циркулирующие гемопоэтические клетки активно пересекают барьер «кровь-эндотелий костного мозга» и задерживаются в костном мозге до начала пролиферации. Для успешного хоуминга требуется, чтобы клетки после их случайного прикрепления в костном мозге имели возможность объединения сигналов от специализированных костномозговых ниш, модулирующих их адгезивное поведение и подвижность [23].

Клетки стромы костного мозга синтезируют фактор стромальных клеток-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1 или CXCL12), который в костном мозге является основным компонентом хемотаксиса для гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников. В дальнейшем SDF-1 удерживает ГСК в костном мозге путем взаимодействия с CXCR4 (С-Х-С рецептору к хемокинам 4 типа), расположенным на этих клетках [69].

Миелоаблативные химиопрепараты или облучение, как любое повреждение тканей, вызывают активацию комплемента с формированием компонентов С3а и С5а. ГСК экспрессируют С3а-рецептор, при этом С3а сам по себе не является прямым хемоаттрактантом, однако он усиливает хемотаксисную восприимчивость ГСК к градиенту SDF-1 через взаимодействие с С3а-рецептором [177, 194]. Это было подтверждено в экспериментах на мышах *in vivo*: у мышей с дефицитом компонента комплемента С3 имело место отсроченное приживание ГСК, трансплантация ГСК от С3а-рецептор-

негативных мышей облученных мышам дикого типа приводила к существенной задержке восстановления гемопоэза [176, 178, 222]. Роль компонента комплемента C5 была показана в экспериментах на мышинных моделях, так и *in vitro*, и остается неоднозначной [117, 132]. Растворимый мембраноатакующий комплекс активирует передачу сигнала в ГСК, усиливает их адгезию к стромальным клеткам костного мозга через интегрин CR3 (CD11b/CD18), который экспрессируется на ГСК, а также увеличивает секрецию SDF-1 в строме костного мозга. Однако C5a угнетает экспрессию CXCR4 и увеличивает экспрессию протеолитических белков на поверхности ГСК, что может препятствовать удержанию ГСК в строме костного мозга. У мышей с дефицитом C5 не происходит формирования мембраноатакующего комплекса, и в эксперименте у них наблюдалось снижение приживления трансплантата [117]. С другой стороны, было показано, что мыши с дефицитом C5 являются плохими мобилизаторами, а также в эксперименте с человеческими ГСК *in vitro* было обнаружено, что уровни фрагментов, образующихся при расщеплении C5, выше в плазме хороших мобилизаторов [133]. При этом у пациентов с апластической анемией/пароксизмальной ночной гемоглобинурией использование ингибитора C5 в рамках режима подготовки к ТГСК не было ассоциировано с проблемами приживления ГСК [123].

При кондиционировании повреждаются как остеобласты, так и синусоидальными сосуды, которые меняют структуру и морфологию, разрываются, становятся проницаемыми. Восстановление васкуляризации занимает недели, при этом донорские ГСК принимают активное участие в этом процессе через активацию VEGF/VEGFR2 (фактора роста эндотелия сосудов/рецептора к фактору роста эндотелия сосудов 2) пути [191, 232]. После кондиционирования наблюдаются значимые изменения количества и локальной концентрации, критичные для жизнеспособности и распределения ГСК, таких цитокинов, как SDF-1, VEGF, IGF-1 (инсулиноподобный фактор роста 1), PDGF-(platelet-derived growth factor, тромбоцитарный фактор роста) и тромбopoэтин (ТПО) [130, 164].

Количество эндотелиальных, периваскулярных клеток и эндотелиальных клеток-предшественников значительно снижается у пациентов с первичной и вторичной ГФН, что указывает на то, что поврежденное микроокружение костного мозга препятствует восстановлению гемопоэза после алло-ТГСК [125, 164].

Также у пациентов с ГФТ обнаруживаются дефекты эндотелиальных клеток-предшественников, эндоостальных клеток и периваскулярных клеток в костномозговом микроокружении [122, 169].

По данным некоторых исследований у пациентов с ГФТ в сравнении со здоровыми донорами и пациентами с хорошей функцией трансплантата имелось значительно меньшее количество остеопонтин-позитивных эндоостальных клеток, CD146+ периваскулярных клеток и эндотелиальных клеток-предшественников. Также у них отмечалось нарушение функционирования эндотелиальных клеток-предшественников: снижение пролиферации, миграции и ангиогенеза – в сочетании с высокими уровнями активных форм кислорода и усиленным апоптозом [122, 124, 199].

Трансплантированные ГСК преобразуют регенерирующую нишу и воздействуют на внеклеточный матрикс путем секреции фоллистатин-подобного протеина 1, через путь Crisp1d1 (cysteine-rich secretory protein 1c1 domain-containing 1) и с помощью других факторов (например, ИЛ-8) [88].

Повреждение и повышение проницаемости сосудов приводит к росту парциального давления кислорода и увеличению количества активных форм кислорода в костном мозге. Это заставляет ГСК переключаться с гликолиза на окислительное фосфорилирование, что в свою очередь увеличивает количество внутриклеточных активных форм кислорода. Высокие концентрации активных форм кислорода стимулируют деление ГСК. В донорских ГСК этому процессу противостоит активность внеклеточной сигнал-регулируемой киназы. В норме ГСК пребывают в гипоксическом костномозговом микроокружении. Оно защи-



щает ГСК от оксидативного стресса, который, напротив, ингибирует их самообновление и приводит к костномозговой недостаточности [88].

В 2016 году Kong et al. сообщили, что даже если CD34+ клетки костного мозга имели нормальные функции перед ТГСК, апоптоз, индуцированный активными формами кислорода может вносить вклад в истощение CD34+ клеток костного мозга у пациентов с ГФТ после алло-ТГСК [125]. Увеличение количества активных форм кислорода связано с ростом частоты поломок цепей ДНК, апоптозом, истощением покоящихся CD34+ клеток и дефектами эффективности колониобразующих единиц, особенно в фракции CD34+ CD38+ [167].

Процесс хоуминга индуцируется прикреплением циркулирующих ГСК к эндотелиальным клеткам с помощью васкулярной молекулы адгезии 1 (VCAM-1) и молекулы межклеточной адгезии 1 (ICAM-1). В недавних исследованиях была проанализирована экспрессия этих белков. Показано, что нарушение приживления и плохое функционирование трансплантата у пациентов с миелофиброзом вызывается ранним пулированием CD34+ ГСК в селезенке и нарушением хоуминга в костном мозге из-за недостатка VCAM-1 [102]. В то время как различий в экспрессии ICAM-1 не наблюдалось, имела место значительная потеря VCAM-1 в образцах костного мозга пациентов с миелофиброзом по сравнению с пациентами с острым миелоидным лейкозом.

После трансплантации и реконституции костного мозга, экспрессия VCAM-1 поднималась до нормального уровня. При этом клиренс CD34+ клеток при миелофиброзе был значительно выше, чем при остром миелоидном лейкозе [102, 128].

VCAM-1 обычно экспрессируется стромальными клетками костного мозга эндотелиальными клетками, он является ключевым протеином адгезии ГСК к эндотелию и последующей миграции в костный мозг. Расщепление VCAM-1 металлопротеазами после применения Г-КСФ ведет к мобилизации ГСК. Протеолитическая среда костного мозга при миелофиброзе провоцирует расще-

пление VCAM-1 и повышение плазматического уровня расщепленного VCAM-1. Это приводит к постоянной мобилизации CD34+ клеток в периферическую кровь и, таким образом, к дефекту хоуминга и снижению частоты приживления [102].

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой важный компонент костномозговой ниши. Основным вкладом этих клеток является продукция хемокинов (например, SDF-1), что обеспечивает хоуминг и выживание ГСК. Также МСК обеспечивают существование таких клеточных линий, как остеобласты, адипоциты и хондробласты. При исследовании МСК пациентов с апластической анемией эти клетки, несмотря на типичную морфологию и наличие типичных маркеров, имели такие функциональные дефекты, как невозможность формирования адгезивного слоя (в половине исследуемых случаев), снижение пролиферативной и клоногенной способностей, а также снижение способности поддерживать гемопоэз в длительно существующей колонии [22, 25, 218]. Изменения в характеристиках МСК при ГФТ были показаны в ряде работ и также заключаются в снижении колониеобразующей способности, ускорении старения и апоптоза. Эти нарушения сочетаются с повышением уровня активных форм кислорода, белка p53 и внутриклеточного белок-ингибитора циклин-зависимой киназы 1A. В совокупности это отражается на способности МСК поддерживать CD34+ клетки [219]. Иммунное микроокружение в костном мозге может подавлять донорские ГСК. Это зависит от поляризации иммунного ответа, а также от интенсивности или уровня секреции цитокинов.

Предполагается, что, как и при апластической анемии и синдромах костномозговой недостаточности, в случае гипофункции трансплантата значимую роль играет нарушение соотношения и активности CD8+ цитотоксических Т-клеток и CD4+ Т-клеток, включая Т-хелперы 1, 2 и 17 типа, регуляторные Т-клетки (Т-рег) [55, 121, 225].

Аллергический иммунный ответ при синдромах костномозговой недостаточности изучался в мышинных моделях РТПХ и апластической анемии. В эксперименте клетки, взятые из лимфатического узла родителя, вводились гибриду первого поколения с МНС-несовместимостью, получившему или не получившую сублетальную дозу облучения. Это вызвало резкое, зависимое от дозы трансплантированных клеток, снижение количества гемопоэтических предшественников и стволовых клеток. Гистологически аплазия костного мозга сочеталась с массивной инфильтрацией Т-клетками, главным образом субпопуляцией CD8<sup>+</sup> клеток [49, 60, 143]. Также в этих исследованиях наблюдалось значимое увеличение концентраций интерферона-гамма (ИФН- $\gamma$ ) [12, 60, 229].

Мышиные модели продемонстрировали, что Т-клетки в костномозговом окружении имеют особый набор поверхностных рецепторов, секретируемых цитокинов и иммунных функций по сравнению с Т-клетками периферической крови. Т-клетки, находящиеся в костном мозге воздействуют на ГСК с целью регуляции гемопоэза путем секреции цитокинов. К ним относятся как усиливающие гемопоэз цитокины: интерлейкин-3, интерлейкин-17, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, так и провоспалительные цитокины: ИФН- $\gamma$ , фактор некроза опухолей-альфа (ФНО- $\alpha$ ). Повышение продукции цитокинов, в том числе ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  также может угнетать пролиферацию и индуцировать апоптоз в донорских ГСК [39, 185, 229].

CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетки поляризуются в отношении иммунного ответа 1 типа у пациентов с ГФТ по сравнению с пациентами с нормальной функцией трансплантата и у здоровых доноров. При ГФТ наблюдается повышение уровня ИФН- $\gamma$  в плазме костного мозга, повышение пропорций Т-хелперов 1 типа (Тх1) и Т-киллеров 1 типа (Тк1) (ИФН- $\gamma$ -продуцирующих CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>клеток), снижение уровня ИЛ-4, а также пропорции Т-хелперов 2 типа (Тх2) и Т-киллеров 2 типа (Тк2) (ИЛ-4-продуцирующих CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>клеток). При этом у пациентов с ГФТ обнаруживаются повышенные уровни Тх1/Тх2 и Тк1/Тк2 по сравнению со

здоровыми донорами и пациентами с нормальной функцией трансплантата. Также активный фенотип CD8<sup>+</sup> Т-клеток и CD4<sup>+</sup> Т-клеток обнаруживается в более значимых пропорциях у пациентов с ГФТ, чем у здоровых доноров, при этом активность CD8<sup>+</sup> Т-клеток ниже при нормальной функции трансплантата [55, 219].

Остаточные Т-клетки хозяина в иммунном микроокружении костного мозга также могут участвовать в патогенезе ГФТ после алло-ТГСК, вызывая дисфункцию ГСК и эндотелиальных клеток-предшественников. Это показали как исследования на животных, так и клинические наблюдения [55, 56, 185]. Более всего этот механизм проявляется при частично совместимых алло-ТГСК [11, 137].

ИФН- $\gamma$  является хорошо известным отрицательным регулятором ГСК, что было показано еще в самых ранних исследованиях *in vitro* как в мышинных, так и человеческих клетках. Он либо напрямую облегчает запрограммированную клеточную смерть, либо путем индукции каспазы-1, а также TRAIL и FAS-путей [188, 196, 226]. ИФН- $\gamma$  препятствует тромбопоэтин-индуцируемому фосфорилированию сигнального преобразователя и активатора транскрипции-5 (STAT-5) в ГСК посредством модуляции супрессорной цитокиновой сигнальной системы (SOCS). Также он участвует в ингибировании пролиферации ГСК через подавление таргетных STAT-5 генов. ИФН- $\gamma$  ингибирует экспрессию ключевых генов клеточного цикла, отвечающих за модуляцию самообновления ГСК, таких как *cyclinD1*, *Myc* и *p57* [60, 229].

ГФТ может быть результатом длительного воздействия ИФН- $\gamma$  на ГСК на фоне хронического воспаления, что в результате приводит к нарушению самообновления и пролиферации ГСК.

В модели РТПХ аплазия костного мозга наблюдалась на фоне массивной инфильтрации CD4<sup>+</sup> Т-клетками, секретирующими ИФН- $\gamma$  [139]. Влияние ИФН- $\gamma$  на ГФТ было продемонстрировано в наблюдении, в котором CD4<sup>+</sup> Т-

клетки, выделенные из ИФН- $\gamma$ -дефицитных мышей, были трансплантированы совместно с трансплантатом костного мозга, подвергшимся деплеции Т-клеток.

В результате у сублетально облученных реципиентов не наблюдалось аплазии костного мозга, в отличие от эксперимента с CD4 + Т-клетками дикого типа [49]. Введение ИФН- $\gamma$ -рецептор-1 дефицитных клеток костного мозга с дефицитом ИФН- $\gamma$ -рецептора-1 приводило к снижению тяжести костномозговой недостаточности [191]. У мышей блокада ИФН- $\gamma$  путем введения нейтрализующих антитела против ИФН- $\gamma$  значительно уменьшала цитопению, изменяя или предотвращая аплазию костного мозга [191, 229].

Обоснованность рассмотрения ИФН- $\gamma$  в качестве ключевого медиатора ГФТ у людей подтверждается обнаружением большего количества ИФН- $\gamma$  продуцирующих CD4 + и CD8 + Т-клеток, и уменьшением доли Т-клеток, продуцирующих ИЛ-4, в костном мозге у пациентов с ГФТ, что приводит к сдвигу в отношении ИФН- $\gamma$ /ИЛ-4 в сторону иммунного ответа 1-го типа [49, 59, 191].

ФНО- $\alpha$  являет собой ещё один воспалительный цитокин, который при гиперэкспрессии может участвовать в развитии посттрансплантационной гипофункции трансплантата. С середины 1990 гг. накоплены сведения относительно ингибирующей роли ФНО- $\alpha$  в пролиферации клоногенных клеток-предшественников *in vitro* [67, 108]. Было показано, что инкубация мышинных длительно живущих самообновляющихся ГСК совместно с ФНО- $\alpha$  усиливает экспрессию Fas и ингибирует образование колоний *in vitro* за счет уменьшения размера, но не числа пролиферирующих клонов, что указывает на то, что ГСК могут подвергаться ограниченному количеству делений, прежде чем стать чувствительным к ФНО-индуцированному торможению роста [231]. Трансплантация этих клеток летально облученным мышам приводила к уменьшению краткосрочного приживления и долговременной восстановительной активности, что демонстрирует влияние ФНО- $\alpha$  на функцию ГСК. Аналогичным образом, в модели ксенотрансплантации человеческих CD34+ CD38-клеток, обработанных

ФНО- $\alpha$  *in vitro* и трансплантированных NOD-SCID мышам, их способность к репопуляции была резко нарушена. Было предложено отрицательное влияние ФНО- $\alpha$  на поддержание ГСК путем усиления их дифференцировки, а не самообновления [53]. Было также показано, что *in vivo* ФНО- $\alpha$  активен в отношении делящихся клеток, а не покоящихся ГСК, что применимо к раннему посттрансплантационному периоду, в который ГСК находятся в разных фазах от покоя до активной пролиферации.

Отдельные исследования демонстрируют преобладание ИЛ-17 ответа, значительное увеличение соотношения «Т-хелперы 17 типа/Т-рег», а также поляризацию CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток в сторону иммунного ответа 1 типа у пациентов с ГФТ по сравнению с пациентами с нормальной функцией трансплантата [55].

Однако имеются сообщения о том, что праймированные CD8<sup>+</sup>Т клетки оказывают негативное влияние на приживание трансплантата, используя альтернативные эффекторные пути, независимые от перфоринов, CD95-лиганда, рецептора-1 ФНО- $\alpha$  или ФНО-зависимого апоптоз-индуцирующий лиганда (TRAIL) [120].

Известно, что эндогенный тромбopoэтин (ТПО) вырабатывается в печени уровень его снижается как при остром, так и при хроническом повреждении печени, что может вносить свой вклад в развитие тромбоцитопении при посттрансплантационных состояниях, сопровождающихся повреждением печени [100, 153]. Также имеются работы о значении кинетики ТПО у пациентов после алло-ТГСК, а именно о плохом прогнозе у пациентов с более высоким уровнем эндогенного ТПО к дню 60 после ТГСК в связи со сниженным пролиферативным потенциалом мегакариоцитов [84].

В настоящее время до конца не определено являются ли механизмы неприживания и ГФТ идентичными, однако предположительно особенно в ранние сроки после ТГСК эти осложнения опосредуются схожими механизмами.

Еще в ранних работах отмечалась высокая значимость анти-HLA-сенсibilизации в приживлении трансплантата [42, 115, 211]. Развитие HLA-сенсibilизации при трансфузиях обусловлено примесью лимфоцитов, содержащихся в большинстве гемокомпонентов. Образующиеся антитела обладают широкой специфичностью из-за широкого спектра антигенов, представленных на донорских клетках.

У 85-90% реципиентов гемотрансфузий определяются антилейкоцитарные антитела в лимфоцитотоксическом тесте и методом лейкоагглютинации. Эта сенсibilизация транзиторна, и антитела элиминируются в течение 10-12 недель после окончания трансфузий. Однако иммунокомпетентные клетки памяти могут обуславливать наличие сохранения ответа более длительное время [10].

Наличие донор-специфичных анти-HLA-антител на момент алло-ТГСК коррелирует с отторжением трансплантата при трансплантации почки. В животных моделях алло-ТГСК анти-HLA-антитела оказались основным препятствием для приживления, что выразилось в быстром (в течение нескольких часов) отторжении трансплантата у аллосенсibilизированных реципиентов при трансплантации частично совместимого костного мозга [42, 211].

Риск отторжения, опосредованного антителами, у человека зависит от плотности антигенов на клетках-мишенях и возможностей Fc-доменов антител. Недостаточность трансплантата, опосредуемая антителами, может возникать путем антитело-зависимой клеточно-опосредуемой цитотоксичности или путем комплемент-опосредуемой цитотоксичностью [211]. Chang et al. в 2015 году опубликовали результаты проспективного исследования связи наличия донор-специфичных анти-HLA-антител и недостаточности трансплантата, включая первичное неприживление и гипофункцию трансплантата. В исследование было включено 345 случаев гаплоидентичных алло-ТГСК с миелоаблативными режимами кондиционирования. Кумулятивная частота ГФТ составила 5,5%.

В многофакторном анализе было показано, что уровень донор-специфичных анти-HLA-антител со средней интенсивностью флуоресценции

$\geq 10,000$  коррелировал с неприживлением ( $p < 0,001$ ), а средняя интенсивность флуоресценции  $\geq 2000$  была ассоциирована с гипофункцией трансплантата ( $p = 0,005$ ) [58].

Анти-HLA-антитела, возникающие *de novo* после алло-ТГСК, могут образовываться в результате активности клеток-памяти реципиента, а также могут продуцироваться донорскими клетками в ответ на HLA-несовместимого донора или в результате переливания крови. Риски их возникновения меньше после миелоаблативных режимов. Имеются сообщения о возможной связи наличия посттрансплантационных анти-HLA-антител и недостаточности трансплантата, но четкой корреляции в представленных исследованиях не было получено [50].

Механизмы аутоиммунных реакций в посттрансплантационном периоде изучены не до конца. Имеются представления о том, что нарушение центрального механизма толерантности при лимфопозе *de novo* после лимфопении, индуцированной облучением, приводит к генерации новые аутореактивные Т- и В-субпопуляций и, при нарушении их контроля, к развитию аутоиммунного заболевания [134]. Лимфодеплеция может временно ингибировать механизмы толерантности, что приводит к расширению пула аутореактивных наивных и/или Т-клеток памяти [152]. В некоторых исследованиях высказывается предположение, что экспансия из пула Т-клеток памяти приводит развитию аутоиммунитета [118].

При аллогенной ТГСК иммунное восстановление и контроль центральной толерантности могут быть скомпрометированы реакцией «трансплантат-против-хозяина» (РТПХ-индуцированное поражение тимуса) и иммуносупрессивной терапией после ТГСК. Имеются сведения, что неродственный донор и распространенная хрРТПХ являются факторами риска для этого осложнения [192].

Среди вариантов проявления гипофункции выделяют аплазию донорского типа. При этом варианте в периферической крови обнаруживаются такие специ-



фические маркеры, как клетки, дефицитные по гликозилфосфатидилинозитол-якорному белку (GPI-AP1, ГФИ-якорь) или лейкоциты, HLA-негативные вследствие копират-нейтральной потери гетерозиготности в коротком плече 6 хромосомы [114]. Механизм иммуноопосредованного нарушения функции трансплантата не вполне изучен, однако известно, что ГФТ такого типа наблюдается в основном у пациентов с синдромами костномозговой недостаточности со встречаемостью менее 6% [225, 227].

Наличие такого рода маркеров, связанных с предрасположенностью к апластической анемии у донора, может быть предиктором риска развития цитопении у реципиента. Это дает возможность посттрансплантационного скрининга и определения тактики дальнейшей терапии [114, 144].

Разнообразие описанных выше механизмов являются ограничивающим фактором в отношении дифференциальной диагностики ГФТ. При этом ГФТ может возникать как самостоятельное осложнение алло-ТГСК, так и на фоне других посттрансплантационных состояний. В этих случаях можно выделить отдельные механизмы патогенеза ГФТ.

### **1.3. Частные механизмы гипofункции трансплантата**

#### ***1.3.1. Гипofункция трансплантата на фоне реакции «трансплантат-против-хозяина»***

Связь реакции «трансплантат-против-хозяина» (РТПХ) и тромбоцитопении была показана еще в ранних работах разных центров [43, 82, 94]. ГФТ при острой РТПХ реализуется через прямую клеточно-клеточную цитотоксичность, сдвиг в сторону Th1-ответа и такие цитокины, как ИФН- $\gamma$  и ИЛ-2. При хронической РТПХ также повышаются уровни провоспалительных цитокинов, и может наблюдаться образование аутоантител [80, 219].

В мышинных моделях именно остеобласты играют роль главной мишени в РТПХ. Донорские эффекторные CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетки вызывают раннее разрушение остеобластов, что приводит к серьезному ухудшению В-лимфопоэза с резким уменьшением числа предшественников В-клеток и уменьшением экспрессии транскрипционных факторов, существенных для В-лимфопоэза, таких как E2A и PAX5 [134]. Однако в исследованиях не было показано различий в сывороточных уровнях основных воспалительных цитокинов, участвующих в РТПХ (ИЛ-1, ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ ), что указывает на то, что они не участвуют в разрушении остеобластов, опосредуемом CD4<sup>+</sup> Т-клетками [219].

Эти данные недавно были подтверждены на группе реципиентов алло-ТГСК с ГФТ на фоне хронической РТПХ. У пациентов с ГФТ имела место потеря остеобластов, снижение количества В-клеток и повышение уровня CD4/CD8-лимфоцитов [122, 210].

В дополнение к растворимым воспалительным медиаторам существенные данные свидетельствуют о Fas-лигандном пути развития гипофункции трансплантации и миелосупрессивного эффекта РТПХ. Fas экспрессируется на поверхности CD34<sup>+</sup> ГСК, и его экспрессия модулируется несколькими факторами, включая ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  [157, 229]. Воздействие агонистических анти-Fas-антител на ГСК ингибирует гемопоэз, индуцируя апоптоз ГСК и усиливая эффекты ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  [74]. В моделях РТПХ использование FasL-дефектных донорских клеток предотвращало аплазию костного мозга. Аналогично, блокада Fas/FasL-взаимодействия с использованием анти-FasL-блокирующих антител значительно уменьшала цитопению и аплазию костного мозга. Было показано, что *in vivo* Fas/FasL путь имеет отношение к ГФТ, связанной с РТПХ и цитомегаловирусной инфекцией [49, 60, 139, 188].

Клинически прослеживается отчетливая связь между РТПХ и ГФТ. Американская группа исследователей (First et al.) наблюдала у пациентов с хронической тромбоцитопенией значительно более высокий процент острой РТПХ (oРТПХ) 3-4 степени (53% vs 20%,  $p < 0,05$ ) и значительно более высокий

уровень возникновения хронической РТПХ (хрРТПХ) (92% vs 39%,  $p < 0,01$ ) по сравнению с пациентами без тромбоцитопении. В группе пациентов с преходящей тромбоцитопенией не было разницы в частоте оРТПХ и хрРТПХ по сравнению с группой нормальной функции трансплантата: 22% vs 20%,  $p > 0,5$  и 56% vs 39%,  $p > 0,05$  соответственно. Во всех случаях оРТПХ предшествовала началу тромбоцитопении. В биоптатах костного мозга исследуемых пациентов обнаруживалось нормальное количество клеток-предшественников. Это позволило предположить, что механизм возникновения тромбоцитопении заключается либо в разрушении тромбоцитов на периферии, либо в неэффективном тромбоцитопоэзе [82]. Bierling et al. показали прямую связь между повышенным уровнем тромбоцит-ассоциированного IgG и хрРТПХ [45].

Исследовательская группа из Италии в 1987 году ретроспективно проанализировала функционирование костного мозга у 171 реципиента HLA-совместимых ТГСК. ГФТ наблюдалась в 24 (14%) случаях, проявляясь уменьшением уровней показателей периферической крови менее 40% от максимального значения предшествующих значений после ТГСК в сочетании со сниженной клеточностью костного мозга по данным биопсии. Лейкопения ( $n=4$ ), тромбоцитопения ( $n=3$ ) или двухростковая цитопения ( $n=17$ ) развивались через  $62 \pm 23$  дней после ТГСК и были связаны с оРТПХ второй и более степени инфекцией ( $n=19$ ). Многофакторный анализ показал, что оРТПХ являлась основным фактором риска ( $p=0,001$ ) для развития ГФТ [172].

Изолированная тромбоцитопения также может быть одним из проявления РТПХ. По данным Bruno et al. среди 1401 случаев аллогенных ТГСК вторичная тромбоцитопения, не связанная с рецидивом основного заболевания, наблюдалась у 285 (20%) пациентов с медианой времени возникновения после ТГСК 63 дня (21-156). Среди пациентов с вторичной тромбоцитопенией 141 (51%) были живы в течение 1 года, причем клиническая картина распространенной хрРТПХ имела место у 71% из них (101/141), локализованная хрРТПХ – у 2,5% (5/141).

Среди факторов, существенно влиявших на возникновение вторичной тромбоцитопении, была оРТПХ 2-4 степени [52].

Группа авторов из Чикаго ретроспективно исследовала 91 случай ТГСК у взрослых. Анализ не показал существенных различий в общей и беспрогрессивной выживаемости между двумя группами. Однако у пациентов с цитопенией без выявленной причины чаще развивалась острая РТПХ (53% против 25%,  $p=0,06$ ) и был значительно выше риск смерти из-за инфекции по сравнению с пациентами без цитопении ( $p=0,04$ ) [163].

Таким образом, цитопения при РТПХ является отдельным феноменом, входящим в структуру данного осложнения и патогенетически связанным с ним. Также следует учитывать нарушения гемопоэза, имеющие место вследствие медикаментозных воздействий для контроля тяжелой РТПХ. В связи с этим в последнее время цитопении, связанные с РТПХ тяжелой степени, исключаются из критериального определения ГФТ [216].

### ***1.3.2. Гипофункция трансплантата на фоне инфекционного процесса***

У пациентов с сепсисом обычно наблюдаются повышение уровня лейкоцитов и нейтрофилия. Однако в некоторых случаях сепсис может быть ассоциирован со снижением уровня АЧН, тромбоцитопенией и анемией. Сепсис является фактором риска в отношении тромбоцитопении с частотой от 35% до 59% [68, 85, 147, 201].

Повышенные уровни воспалительных цитокинов (ИЛ-2, ФНО- $\alpha$ ) обладают супрессивным действием на функцию костного мозга. Повреждение эндотелия эндотоксинами, провоспалительными цитокинами, активными формами кислорода вносят свой вклад в развитие цитопении [98, 107].

Снижение регуляции рецептора Г-КСФ также может является потенциальным механизмом ГФТ в условиях инфекции. Нейтропения может

быть результатом деплеции клеток-предшественников, нарушения созревания или миграции лейкоцитов в очаг воспаления [201].

При сепсисе может иметь место анемия хронического воспаления в результате ретикулоэндотелиального блока транспорта железа, снижения чувствительности эритрона к эритропоэтину, укорочения срока циркуляции эритроцитов за счет снижения способности к деформации. Возможно, это связано с действием активных форм кислорода и ишемическим повреждением тканей при сепсисе. Несколько механизмов, действующих по отдельности или в комбинации, могут быть ответственны за низкое количество тромбоцитов при сепсисе, при этом могут быть затронуты все этапы жизни тромбоцитов. Снижение тромбоцитопоеза в костном мозге может быть результатом ранее существовавших состояний или ингибирующего действия патогенных токсинов, лекарств или медиаторов воспаления. Сокращение жизни тромбоцитов и их потребление или разрушение могут быть связаны с активацией тромбоцитов, происходящей при сепсисе, внутрисосудистой коагулопатии и при иммунных механизмах. Лекарственная тромбоцитопения, гемофагоцитоз, кровотечение, гемодилюция также могут быть причиной снижения уровня тромбоцитов при сепсисе [95].

Недостаточность трансплантата может проявляться вследствие таких причин, как вирусные инфекции. Клинические исследования показали, что многие вирусные инфекции человека ассоциированы с подавлением гемопоэза и обычно проявляются лейкопенией и тромбоцитопенией [15]. Цитомегаловирус (ЦМВ), вирус простого герпеса 6 типа (ВПГ-6), парвовирус 19 типа, аденовирус признаются основными патологическими агентами, способными вызвать цитопению у пациентов в посттрансплантационном периоде. Развитие цитомегаловирусной инфекции после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток отмечается у 60-80% пациентов [34, 46, 105, 167, 218].

У пациентов, перенесших алло-ТГСК, ЦМВ инфекция может сопровождаться панцитопенией, задержкой восстановления тромбоцитов,

фенотипическими дефектами лимфоцитов периферической крови, недостаточностью трансплантата вплоть до полной аплазии [34, 81, 175, 183, 202]. Цитомегаловирусная инфекции у трансплантированных пациентов может проявляться в виде первичной инфекций, реактивации и суперинфекции [31, 221]. ЦМВ-ассоциированная аплазия костного мозга может возникать в результате следующих механизмов: индуцированное ЦМВ повреждение моноцитов и Т-лимфоцитов, которые выделяют ростовые факторы, поддерживающие и стимулирующие пролиферацию/дифференцировку стволовых клеток костного мозга; изменение функционирования стромальных клеток, которое может приводить к миелосупрессии путем недостаточной продукции определенного фактора роста, продукцией ингибирующих факторов роста или нарушению экспрессии поверхностных молекул адгезии, что приводит к нарушению хоуминга; прямое инфицирование гемопоэтических стволовых клеток или клеток-предшественников [31, 77, 89].

В ранних исследованиях было показано, что инфицированные клетки-предшественники могут пролиферировать, и таким образом вирусная инфекция может поддерживаться в культуре клеток в течение нескольких недель. Garwin et al. предоставили данные, указывающие на то, что ЦМВ-инфекция клеток-предшественников в костном мозге *in vitro* может значительно подавлять способность этих клеток отвечать на очищенные рекомбинантные колониестимулирующие факторы [89]. Другой механизм подавления функции костного мозга вирусом может заключаться в инфицировании стромы, что повреждает ее способность поддерживать гемопоэз. Также ЦМВ способен прямо или опосредованно модулировать продукцию цитокинов, участвующих в регуляции кроветворения [31].

Другим инфекционным агентом, для которого характерна связь с посттрансплантационной цитопенией, является парвовирус В19. Парвовирус В19 является одноцепочечным ДНК вирусом. Сероэпидемиологические исследования показывают, что 60-90% взрослых людей имеют антитела к

парвовирусу В19. Впервые данные о парвовирусе В19 в аспекте трансплантации появились в 1986 году [162]. С тех пор были опубликованы многочисленные работы, посвященные парвовирусной инфекции при трансплантации солидных органов и костного мозга. Eid et al. в 2006 опубликовали результаты одноцентрового исследования, характеризующие эпидемиологию и клинический спектр посттрансплантационной парвовирусной инфекции (91 случаев за 16 лет). Согласно этим данным, медиана времени проявления ПВВ19 приходилась на 7 недель после ТГСК. Основными клиническими проявлениями были анемия (99% случаев), лейкопения (37%) и тромбоцитопения (21%) [76]. Исходя из других публикаций, анемия является основным проявлением ПВВ19 инфекции, что объясняется тропностью вируса к эритроидным клетками-предшественникам. Вирус заражает клетку, связываясь с рецептором, известным как Р-антиген. Дальнейшая репликация ПВВ19 ведет к лизису клетки, что в конечном итоге проявляется как красноклеточной аплазией, так и панцитопенией [52, 76, 174].

Вирус герпеса человека 6 типа (ГВЧ-6) инфицирует практически всех детей в первые годы жизни и, подобно другим герпесвирусам, латентно персистирует в организме человека после первичной инфекции. Согласно данным литературы, у 20-50% реципиентов ТГСК развивается реактивация ГВЧ-6 после трансплантации. Реактивация ГВЧ-6 обычно происходит в первые 2-4 недели после ТГСК. ГВЧ-6 типа В выявляется в большинстве случаев в когорте пациентов, перенесших ТГСК. Эпидемиология ГВЧ-6 типа А менее изучена. Ретроспективное исследование Центра исследований рака им. Фреда Хатчинсона, включившее 404 случая алло-ТГСК, показало, что пациенты с двумя и более герпесвирусными инфекциями имеют повышенный риск хрРТПХ и гипофункции трансплантата [105].

Описание влияние инфекции или реактивации других ДНК и РНК вирусов на функцию трансплантата после ТГСК представлено в основном в виде клинических случаев и отдельных публикаций [96, 168]. Среди них наиболее часто встречается описание реактивации ВК-полиомавирусной инфекции. Известно,

что ВК-вирус ассоциирован с возникновением геморрагического цистита после алло-ТГСК, однако имеют место отдельные данные о связи реактивации ВК-полиомавируса с транзиторными цитопениями после алло-ТГСК [168].

Вероятно, в связи с тесной связью вирусных инфекций и вероятностью развития цитопении некоторые исследовательские группы не относят снижение функционирования трансплантата на фоне ЦМВ реактивации к ГФТ, что также приводит к разнице данных в отношении частоты этого осложнений [31].

Инфекционный процесс, как бактериальный, так и вирусный, в редких случаях вызывает сильную иммунологическую активацию моноклеарно-фагоцитарной системы и приводит к вторичному гемофагоцитарному синдрому, которым является фатальным гипервоспалительным процессом, характеризующимся развитием цитопении [146]. Вторичный гемофагоцитоз в посттрансплантационном периоде описывается в единичных случаях и представляет сложную диагностическую задачу, в связи с тем, что множество состояний, характерных для посттрансплантационного периода могут служить триггерами или маскировать это осложнение (сепсис, синдром быстрого приживления, РТПХ, отторжение) [217]. Синдром высвобождения цитокинов представляет собой системный воспалительный ответ, который может быть вызван различными факторами, такими как инфекции и определенные лекарства. Лабораторные нарушения при синдроме выброса цитокинов включают цитопению, повышенный уровень креатинина и трансаминаз, нарушение коагуляции и высокий уровень СРБ. Синдром выброса цитокинов может быть индуцирован прямым лизисом клеток-мишеней с последовательным высвобождением цитокинов, таких как ИФН- $\gamma$  или ФНО- $\alpha$ , или активацией Т-клеток с последующим высвобождением цитокинов. Эти цитокины запускают цепную реакцию из-за активации макрофагов и эндотелиальных клеток с дальнейшим выделением цитокинов, в том числе обладающих миелосупрессивным действием [200]. Таким образом, это еще одно потенциально летальное



посттрансплантационное осложнение с затрудненной диагностикой и ухудшающее функционирование трансплантата после алло-ТГСК.

### *1.3.3. Механизм гиподисфункция трансплантата при гиперспленизме*

Гиперспленизм относится к группе синдромов, которые включают спленомегалию и периферическую цитопению, возникающую из-за различных причин. Гиперспленизм может быть причиной ГФТ в посттрансплантационном периоде. У пациентов с миелопролиферативными заболеваниями и миелодиспластическим синдромом наличие спленомегалии было ассоциировано с большим риском неприживления [165]. Выделяют несколько патогенетических механизмов, приводящих к периферической цитопении при синдроме гиперспленизма. Депонирование значимого объема крови и удерживание в увеличенной селезенке большого количества (в 5-20 раз больше, чем в нормальном кровотоке) лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов приводит к разрушению клеток крови за счет фагоцитоза. Селезенка является крупнейшим лимфоидным органом. Антигены, не прошедшие процессинг в печени, могут проникать на периферию лимфоидных фолликулов селезенки, где после стимуляции антигенами происходят реакции незрелых лимфоцитов и плазматических клеток, что приводит к образованию антител, которые могут разрушать клетки крови. При сравнении селезенки при гиперспленизме с нормальной селезенкой было обнаружено 26 дифференциально экспрессированных цитокинов, 21 из которых значительно повышен при гиперспленизме, включая цитокины, связанные с хемотаксисом моноцитов и активацией макрофагов, такие как макрофагальный колониестимулирующий фактор, ФНО- $\beta$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-10, SDF-1/CXCL12 и другие [138].

В когорте взрослых пациентов наибольшую роль размер селезенки играет при миелопролиферативных заболеваниях. В ранних исследованиях было оценено влияние спленэктомии на приживление и потребность в переливании

тромбоцитов у 67 пациентов с хроническим миелоидным лейкозом после алло-ТГСК. Сообщалось, что по сравнению с пациентами, у которых спленэктомия была проведена до трансплантации, наличие селезенки было важным фактором в замедлении восстановления количества тромбоцитов после алло-ТГСК. Однако среди неспленэктомированных пациентов размер селезенки не влиял на скорость восстановления тромбоцитов или потребности в переливании тромбоцитов [37]. Anasetti et al. в работе, включавшей пациентов с идиопатической апластической анемией и острыми лейкозами, напротив, сделали вывод о том, что секвестрация тромбоцитов в селезенке не является основным фактором развития посттрансплантационной тромбоцитопении [33]. Другое исследование показало тенденцию к тому, что спленэктомированные пациенты имели более быстрое восстановление количества тромбоцитов по сравнению с неспленэктомированными, при этом наблюдалась сходная частота хрРТПХ в обеих группах [101].

Kroger et al. в работе 2009 года показали, что спленомегалия имеет значение для скорости приживления трансплантата, но не влияет на общую выживаемость пациентов с миелофиброзом [127]. В большом ретроспективном исследовании рабочей группы CIBMTR, была проведена оценка влияния размеров селезенки на приживление и выживаемость после алло-ТГСК. В исследование было включено 9 683 случая миелоаблативных алло-ТГСК 1990 по 2006 годы у пациентов, как с нормальной селезенкой, так и со спленомегалией, спленэктомией, а также после облучения селезенки.

Замедленное приживление нейтрофилов и тромбоцитов было ассоциировано со спленомегалией, а более быстрое приживление наблюдалось при использовании СКПК по сравнению с костным мозгом, особенно при более высоком количестве CD34+ клеток ( $>5,7 \times 10^6 / \text{CD34+} / \text{кг}$ ). При этом влияния спленэктомии или облучения селезенки перед алло-ТГСК на выживаемость не было показано этом исследовании [28]. Основные работы в когорте миелопролиферативных заболеваний касаются гиперспленизма в рамках влия-

ния на приживление, однако имеются данные о длительной ГФТ при отсутствии признаков рецидива заболевания и эффекте спленэктомии у пациентов, не ответивших на терапию JAK2-ингибиторами [5].

#### *1.3.4. Гипофункция трансплантата и эндотелиопатии*

В относительно ранней фазе после алло-ТГСК многие факторы (режим кондиционирования, РТПХ, синдром выброса цитокинов, инфекционные заболевания, токсичность ингибиторов кальциневрина или нарушения пути комплемента) могут вызывать серьезные повреждения эндотелия. Повреждения схожи при синдроме синусоидальной обструкции/веноокклюзионной болезни (ССО/ВОБ) и при тромботической микроангиопатии, ассоциированной с трансплантацией (ТА-ТМА), и основаны на усилении протромботического и провоспалительного ответа системно измененного эндотелия [108].

Частота ТА-ТМА варьирует очень широко (0,5-70%) и часто ассоциируется с РТПХ, ЦМВ-инфекцией и другими вирусными или грибковыми заболеваниями, неродственным или частично-совместимыми алло-ТГСК [62]. Среднее время до начала ТА-ТМА составляет примерно 30-45 дней после алло-ТГСК, существенно позже, чем ССО/ВОБ, пик которой приходится на день +12. Уровень смертности составляет примерно 30–80%. Вновь возникшая анемия и тромбоцитопения  $<50 \times 10^9/\text{л}$  или снижение уровня тромбоцитов  $>50\%$  являются одним из критериев ТА-ТМА [108, 213].

Учитывая разнообразие факторов риска и фоновых состояний при ТА-ТМА, а также возможность генерализованного подавления гемопоэза при данном осложнении, остается открытым вопрос проведения и целесообразности дифференциальной диагностики ГФТ, протекающей на фоне ТА-ТМА.

### ***1.3.5. Гипофункция трансплантата и аутоиммунные цитопении***

Появление аутоиммунных осложнений после алло-ТГСК все чаще признается отдельным феноменом [65]. Несмотря на небольшую частоту, аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) и другие аутоиммунные цитопении (АИПТЦ) описываются как серьезные осложнения ТГСК как у взрослых, так и у детей. Аутоиммунная цитопения после алло-ТГСК в литературе описана как аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА), иммунная тромбоцитопения (ИТП), гранулоцитопения или комбинация этих состояний. В клинических случаях были описаны аутоиммунные нейтропении, а также мультилинейные аутоиммунные цитопении и множественные комбинированные аутоиммунные явления у пациентов после ТГСК [79, 133, 149]. Кумулятивная частота аутоиммунных цитопений после алло-ТГСК составляет около 1,5% в первый год после алло-ТГСК и достигает до 2,50% к 10 годам после ТГСК. При этом у пациентов с совместимыми родственными алло-ТГСК эти осложнения встречаются почти 5 раз реже. Пациенты с незлокачественными заболеваниями более подвержены развитию аутоиммунных осложнений в посттрансплантационном периоде. АИГА является наиболее частым явлением в этой группе: 3-5% ТГСК у взрослых и 6% у детей с дебютом в среднем через 10 месяцев после алло-ТГСК. При этом пациенты с АИГА имеют очень плохой прогноз выживаемости за счет осложнений, связанных с лечением (РТПХ, инфекции). Иммунная тромбоцитопения встречается в 0,9-1,4% случаев, синдром Эванса у 0,3-1,2% реципиентов алло-ТГСК [79].

Парциальная красноклеточная аплазия (ПККА) после АВО-несовместимой алло-ТГСК наиболее часто наблюдается при комбинации группы крови А у донора и группы О у реципиента. Встречаемость достигает до 10%, причем часть случаев разрешаются спонтанно, однако 30-40% требуют специфического лечения [149]. Сведения о связи АВО-несовместимости и функции трансплантата разнятся. В работе Кучера и соавторов не было показано достоверной связи между наличием АВО-несовместимости и удлинением сроков приживления транс-

плантата. Однако среди пациентов с первичным неприживлением удельный вес случаев с АВО-несовместимостью был значимым [14]. По некоторым данным около 16% случаев ПККА может сочетаться с тяжелой ГФТ [36].

### *1.3.6. Механизм лекарственно-ассоциированной ГФТ*

При проведении алло-ТГСК может развиваться весь спектр лекарственных цитопений. Вызванные лекарственными средствами гематологические нарушения чаще встречаются у пожилых людей, чем у молодых. Риск смерти от лекарственных цитопений также увеличивается с возрастом [111].

Лекарственные цитопении могут развиваться посредством иммунных механизмов: гаптенного, иммунокомплексного и аутоиммунного. Другими механизмами лекарственных цитопений могут быть: прямая токсичность, метаболит-зависимая токсичность, неиммунная адсорбция белков. При гаптенном механизме препарат или его метаболит связывается с мембраной нейтрофила или миелоидных предшественников, что запускает антительный путь клеточной деструкции. При иммуно-комплексном механизме антитела образуют комплексы с возбудителем, а иммунные комплексы связывается с клеткой-мишенью, что приводит к ее разрушению. Наконец, при аутоиммунном механизме, препарат запускает продукцию аутоантител, которые реагируют с нейтрофилами [8, 111]. Почти все классы лекарств в определенных случаях могут стать причиной возникновения агранулоцитоза, однако для некоторых препаратов риск может быть выше. К таким агентам относятся, например, триметоприм-сульфаметоксазол,  $\beta$ -лактамы антибиотики. При этом, агранулоцитоз, индуцированный пенициллином, может быть дозозависимым. Производные пенициллина и цефалоспорины при приеме в высоких дозах в основном связаны с гаптенным типом иммунной реакции и иммунной гемолитической анемией. [103].

Дефицит витамина В12 или фолиевой кислоты может являться причиной нарушения пролиферации и созревания кроветворных клеток. В связи с этим класс химиотерапевтических агентов антиметаболитов чаще всего ассоциируется с вызванной лекарственными средствами мегалобластной анемией. Метотрексат, необратимый ингибитор дигидрофолатредуктазы, вызывает мегалобластную анемию у 3-9% пациентов. Некоторые антибиотики, например, котримоксазол, также вызывают медикаментозную мегалобластную анемию как в низких, так и в высоких дозах, особенно у пациентов с частичным дефицитом витамина В12 или фолиевой кислоты, что часто имеет место в условиях раннего посттрансплантационного периода [8].

Наркотические анальгетики могут влиять на эритроциты, вызывая ряд различных анемий, включая лекарственную иммуногемолитическую анемию, лекарственную окислительную гемолитическую анемию или лекарственную мегалобластную анемию [8,111].

Хелатор железа деферипрон связан со значительным риском нейтропении (8,5%) и агранулоцитоза (0,5%). При этом частота нейтропении была значительно выше у пациентов с интактной селезенкой. Механизм токсичности в значительной степени неизвестен. Предлагаемые механизмы включали ингибирование колоний гранулоцитарно-макрофагальных колониеобразующих единиц в костном мозге, нарушение созревания гранулоцитарной линии на стадии колониеобразующих единиц или взаимодействия с другими атомами заменимых металлов, такими как медь [111].

В некоторых сообщениях указывается, что у 5% пациентов, получающих гепарин, развивается гепарин-индуцированная тромбоцитопения [8].

Наибольшее количество данных о значении в развитии цитопении после алло-ТГСК имеется в отношении ганцикловира. Ганцикловир является ациклическим нуклеозидным аналогом 2'-дезоксигуанозина, который ингибирует репликацию цитомегаловируса и вируса простого герпеса. Ганцикловир плохо абсорбируется, его биодоступность 5% до 9%. Валганцикловир, пероральный

продукт ганцикловира, гидролизируется до ганцикловира в плазме. Существует ограниченное количество данных о лекарственных взаимодействиях для ганцикловира и валганцикловира [71]. Основным из побочных эффектов ганцикловира и его пролекарства является миелосупрессия. Нейтропения, наблюдаемая примерно у 40% пациентов, и тромбоцитопения, возникает в 15-20% случаев. Обычно эти эффекты обратимы и исчезают через 1-2 недели после отмены терапии, однако в рамках алло-ТГСК возможно возникновение длительной и глубокой нейтропении, что может контролироваться назначением Г-КСФ [93].

Ингибиторы тирозинкиназ, используемые в посттрансплантационном периоде для контроля рецидива при Rh-позитивных острых лейкозах и хроническом миелолейкозе, вызывают цитопению, требующую их отмены в 10% случаев [24, 92]. Также имеются данные о развитии иммунной тромбоцитопении на фоне приема иматиниба [41]. Ингибиторы янус-киназ, получившие в последнее время достаточно широкое применение в посттрансплантационном периоде как для контроля основного заболевания у пациентов с миелопролиферативными заболеваниями, так и для лечения РТПХ, могут вызывать обратимую нейтропению и тромбоцитопению в 3-33% случаев [101, 194].

Таким образом, патогенез ГФТ представляется многофакторным динамическим процессом, в котором задействовано множество механизмов и который пересекается со многими посттрансплантационными осложнениями. Возможности дифференциальной диагностики в условиях реальной клинической практики ограничены, и иногда невозможно четко разграничить одно состояние с другим. Это в свою очередь затрудняет подбор терапии данного осложнения. Остается актуальным разработка алгоритма оценки факторов риска и диагностики тГФТ, что до настоящего времени не освещено в литературе.

#### 1.4. Варианты профилактики и терапии гипофункции трансплантата

Все терапевтические опции при ГФТ можно условно разделить на три группы: 1) устранение потенциальной причиной ГФТ; 2) контроль клеточных и гуморальных патогенетических звеньев ГФТ; 3) модификация активности трансплантата и функциональности костномозговой ниши [70, 210, 218].

Предположительно, методы направленные на улучшение приживления трансплантата являются потенциальной профилактикой ГФТ, однако в настоящее время этот вопрос изучен недостаточно.

При обнаружении антидонорских анти-HLA антител возможно использование нескольких методов десенситизации для снижения общей нагрузки до уровней, при которых возможно приживление донорских ГСК. Выделяют следующие стратегии: удаление антител с использованием плазмафереза или иммуноабсорбции, подавление продукции антител с использованием моноклональных антител к CD20+ В-лимфоцитам (ритуксимаб) и ингибитора протеасом плазматических клеток (бортезомиб), нейтрализация антител с использованием внутривенного иммуноглобулина, ингибирование комплементарного каскада (анти-C5a: экулизумаб) [63, 193, 210].

Мониторинг ЦМВ-антигенемии или ДНК-емии, может быть эффективным способом контроля и существенно снижать риск развития ЦМВ-болезни. Упреждающая терапия, основанная на контроле ЦМВ-виремии, является стандартом после ТГСК [78].

Хорошо известно, что характеристики трансплантата, в том числе соотношение клеточных линий в трансплантате, могут влиять на клинический результат после алло-ТГСК. Сообщалось о наличии явной связи между большим количеством CD34+ клеток в трансплантате и лучшим приживлением, а также большей выживаемостью после HLA-идентичной алло-ТГСК [43, 103]. Крупное многоцентровое проспективное исследование показало, что более высокое число CD34+ клеток в трансплантате было независимым фактором, значимо улучшающим результаты алло-ТГСК, включая более быстрое восстановление



гемопоеза и увеличение общей выживаемости. Конкретные цифры оптимальной клеточности трансплантата разнятся от исследования к исследованию [180-182]. Дозы CD34+ клеток от 4,5 до  $9,5 \times 10^6$ /кг веса реципиента привели к 12% улучшению трехлетней общей выживаемости у реципиентов с миелоаблативным кондиционированием. Данные о дозах более  $9,5 \times 10^6$ /кг противоречивы в отношении улучшения общей выживаемости [111, 129, 173]. Множество исследований, в том числе ранних, предоставляют доказательства того, что донорские Т-клетки являются стимулирующим фактором приживления ГСК [87, 90, 110]. Предполагается, что донорские Т-клетки могут поддерживать приживание донорских ГСК за счет нескольких механизмов: разрушая резидуальные ГСК или Т-клетки хозяина, усиливая хоуминг ГСК или активируя дифференцировку ГСК через ИФН- $\gamma$ -индуцируемую продукцию ИЛ-6 мезенхимальными клетками.

Донорские Т-регуляторные клетки также способствуют приживлению трансплантата, не вызывая РТПХ. В мышинной модели ТГСК от полностью несовместимого по МНС донора котрансплантация донорских Т-регуляторных клеток реципиентам, получавшим сублетальные дозы во время кондиционирования, приводила к уменьшению раннего отторжения гемопоэтических предшественников и способствовала сохранению донорского химеризма без индукции РТПХ в отдаленные сроки [111, 158].

Основным ограничением терапии, основанной на Т-рег, является трудность изолировать их из периферической крови в количествах достаточных для адоптивной терапии. Потенциальной альтернативой представляется использование свежесыведенных или культивированных *ex vivo* сторонних Т-рег, а также фармакологические способы индуцирования Т-рег *in vivo*. Введение моноклональных антител ИЛ-2/анти-ИЛ-2 мышам, получившим немиелоаблативное кондиционирование, в ранние сроки после МНС-совместимой алло-ТГСК вызывает сильную экспансию Т-рег хозяина, что способствует раннему и долгосрочному приживлению [196, 205]. Следует

отметить, что при отсутствии предшествующего циторедуктивного воздействия введение комплексов IL-2/анти-IL-2 не способствовало приживлению костного мозга, поскольку эффект распространялся не только на T-рег, но и на другие субпопуляции лимфоцитов. Другие молекулы, индуцирующие экспансию T-рег *in vivo* (например, фактор роста кератиноцитов), тоже потенциально могут способствовать приживлению. Фактор роста кератиноцитов способствовал приживлению в модели ТГСК от МНС-совместимого донора путем увеличения количества T-рег и повышения их иммунодепрессивной способности *in vivo* [205].

НК-клетки донора, подобно донорским T-клеткам, могут способствовать приживлению ГСК. Данные об этом получены как в исследованиях на животных, так и в клинических исследованиях. У мышей введение донорских НК-клеток облегчает приживание ГСК, наиболее вероятно, путем снижения устойчивости остаточных T-рег хозяина к трансплантату. У людей аналогичный эффект наблюдался при гаплоидентичной ТГСК: при трансплантации с несовместимыми клетками KIR-лиганда в направлении трансплантата против хозяина наблюдалась меньшая частота отторжения трансплантата у пациентов с острым миелоидным лейкозом [11, 160, 161, 189].

Ко второй группе профилактики ГФТ может быть отнесена модификация режимов кондиционирования. При режимах кондиционирования с редуцированной интенсивностью (РИК) и немиелоаблативных (НМА) режимах часто наблюдается смешанный донорский химеризм, процент которого может различаться в разных клеточных линиях, в зависимости от интенсивности примененного режима, HLA-совместимости между донором и реципиентом, клеточного состава трансплантата и других факторов [60, 99]. Полный донорский химеризм быстро развивается после РИК, в которых используются более миелосупрессивные комбинации. Напротив, приживание и полный донорский химеризм достигается дольше при менее интенсивных и при НМА режимах. Для случаев с НМА режимами использование более высоких доз T-

клеток, CD14+ клеток, NK-клеток и CD34+ клеток коррелируют с более высоким уровнем донорского Т-клеточного химеризма и меньшим риском отторжения [43].

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) представляют собой стромальные мультипотентные предшественники, они демонстрируют иммуномодулирующие свойства в аспекте ТГСК. Имеются отдельные сообщения об экспериментальных исследованиях, проведенных на людях, у которых МСК были трансплантированы совместно с ГСК; сообщалось об ускоренном приживлении трансплантата [44].

Некоторые авторы показали положительный эффект ацетилцистеина и аскорбиновой кислоты при посттрансплантационной тромбоцитопении. Механизм действия в этом случае заключается в противостоянии оксидативному стрессу и апоптозу, а также в улучшении функции МСК, которые поддерживают костномозговую нишу [124, 220].

Эффективный контроль РТПХ также играет значимую роль в терапии ГФТ, учитывая то, что имеет место четкая корреляция тяжелых форм РТПХ с развитием цитопении и снижением выживаемости после алло-ТГСК [69, 223]. Несмотря на то, что приживление при применении посттрансплантационного циклофосфида наступает медленнее, чем при применении АТГ, частота первичного неприживления трансплантата не отличается в обеих группах [18].

Аплазия донорского типа как один из вариантов гипофункции трансплантата потенциально может быть точкой приложения иммуносупрессивной терапии без повторной алло-ТГСК. Этот тип ГФТ документирован в основном в педиатрической популяции среди пациентов с апластической анемией. В настоящее время имеются данные о преимуществе более высоких доз циклофосфида в режиме кондиционирования, а также единичные свидетельства эффективности применения АТГ в посттрансплантационном периоде [144, 225].

К первой группе терапевтических опций можно отнести отмену лекарственного препарата при медикаментозной цитопении. Так пенициллин-зависимая анемия обычно разрешается примерно через 2 недели после отмены препарата. При этом прямой антиглобулиновый тест Кумбса может оставаться положительным в течение нескольких недель [104].

Назначение и отмена противовирусных препаратов относится к этой же категории терапевтических вмешательств. Ганцикловир является терапией первой линии, минимальная длительность которой составляет две недели в зависимости от обнаружения ЦМВ на момент окончания курса. Валганцикловир может быть альтернативой. Фоскарнет и цидофовир – препараты второй линии с учетом медикаментозной токсичности. Высокие дозы иммуноглобулинов также могут быть эффективны в комбинации с противовирусными агентами. Резистентность ганцикловиру довольно редко встречается и обычно происходит из-за мутаций в гене UL97. Цидофовир используется в качестве замены ганцикловира и фоскарнета (эффективность при этом 50%) [78].

До сих пор ЦМВ-инфекция остается одной из наиболее значимых проблем в аспекте плохой функции трансплантата. В большинстве случаев реактивация ЦМВ происходит в первые три месяца после ТГСК. Около 75% ЦМВ-позитивных реципиентов развивают реактивацию инфекции, при этом у 20-30% пациентов без лечения развивается ЦМВ-болезнь [78].

Ингибирование эффекторных клеток с помощью ингибиторов кальциневрина, ингибиторов mTOR, ингибиторов тирозинкиназ и янус-киназ, нейтрализация активации комплемента с целью контроля РТПХ, лечения посттрансплантационных эндотелиопатий могут рассматриваться как опции в терапии в том числе и ГФТ [219].

В случаях цитопении, вызванной синдромом активации макрофагов, могут быть эффективны ингибиторы таких цитокинов, как ИЛ-1, ИЛ-6, например, анакинра, канакинумаб, тоцилизумаб [97]. ИФН- $\gamma$  также вероятно, представляет собой перспективную цель для иммунотерапевтических вмешательств при ГФТ.

По данным нескольких исследований на мышах блокировка ИФН- $\gamma$  с помощью анти-ИФН- $\gamma$  антител значительно уменьшала цитопению и предотвращала развитие аплазии. В настоящее время проводятся клинические испытания целенаправленного использования анти-ИФН- $\gamma$  антител (NI-0501) при первичном гемофагоцитарном лимфогистиоцитозе (NCT01818492). В случае успешного исхода испытаний данный метод в дальнейшем может быть реализован и в посттрансплантационном периоде [215].

При аутоиммунных посттрансплантационных цитопениях выжидательный подход, кортикостероиды и внутривенный иммуноглобулин в качестве терапии первой линии могут приводить к разрешению в 35% случаев. Однако ритуксимаб, бортезомиб и сиролимус, а также усиление иммуносупрессивной терапии (циклоспорин А, микофенолата мофетил) могут быть перспективными методами лечения [80].

Имеются сообщения о том, что аторвастатин представляет собой перспективный терапевтический подход к восстановлению нарушенных эндотелиальных клеток-предшественников у пациентов с плохой функцией трансплантата. Добавление аторвастатина в культуру костного мозга пациентов ГФТ на 7 день повышало количество и функциональную способность эндотелиальных клеток-предшественников с помощью понижающей регуляции пути p38 MAPK [205].

Колонистимулирующие факторы – это группа гликопротеинов с различной способностью стимулировать рост и дифференцировку ранних и поздних гемопоэтических клеток-предшественников. Г-КСФ использовался с 1980-х г. для укорочения периода нейтропении послехимиотерапии, аутологичной и аллогенной ТГСК. В серии ретроспективных исследований ГФТ был показан хороший ответ на Г-КСФ, и этот ответ поддерживался после прекращения терапии [47, 48, 116]. В анализе, проведенном французской группой, было выявлено, что те пациенты, у которых уровень лейкоцитов повышался более  $0,1 \times 10^9/\text{л}$  в течение 3 дней, вероятно, будут длительно сохранять ответ на лече-

ние. При этом пятилетняя выживаемость у ответивших на терапию пациентов была почти в 4 раза выше, чем у не ответивших [48].

Тромбопоэтин (ТПО) – это основной цитокин, который принимает участие в регуляции ранних этапов гемопоэза, мегакариопоэза и выработке тромбоцитов; он является эндогенным лигандом для рецептора тромбопоэтина (рТПО). Агонисты рецептора тромбопоэтина (ромиплостим и элтромбопаг) впервые были одобрены для лечения ИТП в 2008 году.

Оба препарата связываются с рецептором тромбопоэтина, вызывая изменения его конформации и активацию JAK2/STAT5 пути. Однако ромиплостим является рекомбинантным тромбоцитопоэз-стимулирующим фактором роста, состоящим из 2 IgGFc-доменов и 4 белковых молекул ТПО миметика. Механизм действия ромиплостима аналогичен эндогенному ТПО, он конкурирует с ТПО за связывающий домен, в то время как элтромбопаг является синтетической низкомолекулярным агонистом рТПО и связывается с трансмембранным доменом [208].

Принципиальное отличие элтромбопага от других ростовых факторов состоит в том, что элтромбопаг стимулирует пролиферацию остаточных стволовых клеток, действуя на более высоком уровне, чем другие ростовые факторы. При этом высокие уровни эндогенного тромбопоэтина, по-видимому, не препятствуют достижению ответа в отличие от ситуации с эритропоэтином, когда применение его оказывается неэффективным при исходно высоких эндогенных уровнях этого вещества. Кроме активации ГСК элтромбопаг может оказывать иммуномодулирующее воздействие путем увеличения регуляторных Т и В-клеток, секреции трансформирующего фактора роста- $\beta$ , нарушения дифференцировки дендритных клеток и снижения высвобождения ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  [32].

Совокупность факторов в посттрансплантационном периоде создают ряд иммунных факторов, затрудняющих нормальное функционирование трансплантированных ГСК [60, 121, 188, 226]. ИФН- $\gamma$  специфически

гетеродимеризуется с ТПО, что приводит к закрытию низко-аффинного связывающего домена ТПО, нарушению димеризации рецептора, изменению ТРО-зависимого сигнального пути, снижению выживания ГСК. Элтромбопаг не вовлекается в этот механизм, соответственно сохраняет свое сродство к рецептору ТПО и продолжает выполнять свои функции и в присутствии ИФН- $\gamma$  [32].

Кроме этого, элтромбопаг оказывает хелаторное действие на вне- и внутриклеточный кальций и железо и выводит железо из клеток, что оказывает антипролиферативное действие на клеточные линии лейкоза и независимое от ТРО стимулирующее действие на предшественники мегакариоцитов.

Использование агонистов рТПО довольно широко изучено в аспекте ИТП, апластической анемии, а также миелодиспластического синдрома и миелоидного лейкоза [154]. Также эти препараты остаются важной составляющей экспериментальных протоколов *ex vivo* экспансии стволовых клеток, но их место при аллогенной трансплантации все еще не до конца определено. В имеющихся в литературе сообщениях освещаются положительные результаты использования как ромиплостима, так и элтромбопага для разрешения цитопении после алло-ТСГК [73, 126, 208]. В настоящее время ведутся клинические испытания, посвященные месту агонистов рТПО в посттрансплантационной терапии (NCT00903929, NCT01000051, NCT01791101). Эти сведения позволили включить в данную работу исследование эффективности агонистов рТПО при ГФТ.

Эффективность повторных трансфузий CD34+клеток с применением или без предшествующего режима кондиционирования достаточно широко показана в литературе, однако остается нерешенным ряд вопросов: сроки использования данного метода, выбор донора и источника трансплантата, выбор режима кондиционирования [119, 131].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика пациентов

Исследование выполнялось на базе клиники НИИ Детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова».

Всего было проанализировано 710 человек с документированным приживлением трансплантата старше 18 лет, перенесших алло-ТГСК в клинике НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» в период с 2008 по 2017 годы.

Исследование функционирования трансплантата включало в себя ретроспективную (2008-2014 годы) и проспективную (2015-2017 годы) части.

Период наблюдения пациентов от момента алло-ТГСК составил от 16 дней до 8 лет (медиана 1 год 3 месяца). Медиана возраста пациентов на момент проведения трансплантации была 31 (18-70) год. Число реципиентов алло-ТГСК мужского пола (n=391, 55%) несколько преобладало перед реципиентами женского пола (n=319, 45%). В исследование включены пациенты, страдающие злокачественными заболеваниями системы крови и приобретенной идиопатической апластической анемией.

Пациенты с лимфопролиферативными заболеваниями (ЛПЗ) составили 35% (n=252). Из них с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) – 25% (182 случая), с лимфомой Ходжкина и неходжкинскими лимфомами и хроническим лимфолейкозом – 10% (70 больных). Пациенты с миелолипролиферативными заболеваниями составили 61% (n=433): с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) – 45% (318 больных), с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) – 8% (59 больных), миелодиспластическим синдромом (МДС) – 5% (35 больных), с первичным



миелофиброзом – 1,5% (10 больных), с вторичным миелофиброзом – 0,5% (4 больных), хроническим миеломоноцитарным лейкозом – 0,5% (3 больных), МДС/МПЗ – 0,5% (4 больных), а также двадцать пять пациентов (4%) – с приобретенной идиопатической апластической анемией тяжелой степени (ТАА) (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика группы по диагнозам

<b>Заболевания</b>	<b>Количество пациентов, n (%)</b>
<b>Количество пациентов</b>	710
<b>Синдромы костно-мозговой недостаточности</b> Идиопатическая апластическая анемия	25(4)
<b>Острые лейкозы</b> Острый миелоидный лейкоз Острый лимфобластный лейкоз	318(45) 182 (25)
<b>Миелопролиферативные заболевания</b> Хронический миелоидный лейкоз Миелодиспластический синдром Первичный миелофиброз Вторичный миелофиброз МДС/МПН Хронический миеломоноцитарный лейкоз	59 (8) 35(5) 10 (1,5) 5 (0,5) 3 (0,5) 3 (0,5)
<b>Лимфопролиферативные заболевания</b> Лимфома Ходжкина Неходжкинские лимфомы Хронический лимфолейкоз	39 (5,5) 18 (2,5) 13(2)

Диагнозы устанавливались на основании клинических рекомендаций для каждой из нозологий: Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению хронического миелолейкоза (Москва, 2013 г.); Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых миелоидных лейкозов у взрослых (Москва, 2014 г.); Клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний у взрослых (Москва, 2014 г.); Клинические рекомендации по лечению апластической анемии (Москва, 2014 г.); Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению

миелодиспластических синдромов взрослых (Москва, 2015 г.); Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых лимфобластных лейкозов у взрослых (Москва, 2018 г.).

У всех пациентов оценивались следующие параметры:

- оценка стадии заболевания до и в контрольные временные отрезки после алло-ТГСК с выполнением следующих исследований: цитологического, а также иммунофенотипирования, и/или цитогенетического, и/или молекулярно-биологического исследования костного мозга;
- мониторинг гемограммы в течение всего срока наблюдения (ежедневно до восстановления гемопоэза после алло-ТГСК, как минимум один раз в три месяца после восстановления кроветворения);
- мониторинг донорского химеризма после проведения алло-ТГСК;
- мониторинг инфекционных осложнений (вирусологические, бактериологические исследования).

С целью контроля ремиссии заболевания применяли морфологические, молекулярно-биологические, цитогенетические и цитофлуориметрические методы исследования в соответствующих лабораториях клиники НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой (рук. лаб. Щеголева Т.С., зав. лаб. к.м.н. Гиндина Т. Л., зав. лаб. Бабенко Е. В.)

Из 182 пациентов с ОЛЛ на момент проведения алло-ТГСК 74 пациента находились в первой полной клинико-гематологической ремиссии (ПКГР), 75 – во второй и более ПКГР, 33 больных – вне ремиссии заболевания (рецидив, первично-резистентное течение). Из 318 больных ОМЛ – 170 пациентов в первой ПКГР, 73 – во второй и более ПКГР, 75 больных – вне ремиссии. Распределение в зависимости от стадии заболевания больных с ХМЛ было следующим: 14 из 59 пациентов – в первой хронической фазе (ХФ), 18 пациент – во второй и более ХФ, 27 пациентов – в фазе акселерации (ФА) или бластном кризе (БК).

Пациентам с диагнозом МДС алло-ТГСК была проведена при полном ответе у 5 пациентов, при частичном ответе – у 2 пациентов, в 28 – при стабили-

зации или при наличии активного заболевания. У трех пациентов с МДС/МПН имелся ответ на терапию перед алло-ТГСК, остальным 18 алло-ТГСК выполнялась при наличии активного заболевания. Среди пациентов с ЛХ в трех случаях алло-ТГСК проводилась в первой ПКГР, во второй и более ПКГР – 10 пациентов, в частичной ремиссии – 10, вне ремиссии – 16 человек. Пациенты с НХЛ в первой ПКГР – 1 человек, во второй и более ПКГР – 5 случаев, в частичной ремиссии – 3, вне ремиссии – 9 пациентов. Среди пациентов с ХЛЛ трое были в частичной ремиссии заболевания перед алло-ТГСК, остальные 10 пациентов – вне ремиссии. Таким образом, у 30% (n=216) – алло-ТГСК выполнена вне ремиссии заболевания.

В проспективном разделе исследования, посвященном изучению эффективности агонистов рТПО, была сформирована отдельная когорта пациентов (n=31), подробная характеристика которой приведена в главе 5.

## **2.2. Определения, ключевые точки**

Критериями тяжелой гипофункции трансплантата были: 1) цитопения как минимум в 2/3 линий: нейтрофилы  $<0,5 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоциты  $<20 \times 10^9/\text{л}$  или гемоглобин  $<70$  г/л в любое время после достижения приживления; 2) полный или стабильный смешанный донорский химеризм  $> 90\%$ ; 3) отсутствие рецидива заболевания, отторжения трансплантата и острой РТПХ III-IV ст.

Персистирующей гипофункцией трансплантата считалось медленное или неполное восстановление гемопоэза после 28-го дня после алло-ТГСК. Вновь возникшей гипофункцией трансплантата считалась цитопения, возникшая после документированного приживления и периода нормального функционирования трансплантата [125].

Критериями восстановления кроветворения явились положения о приживлении трансплантата гемопоэтических стволовых клеток, принятые Европейской Группой Трансплантации Костного Мозга (EBMT) и Центром Международного Изучения крови и костного мозга (СIBMTR). Днем приживления трансплантата

считался первый из трех последовательных дней достижения и сохранения в периферической крови абсолютного числа нейтрофилов (АЧН)  $>0,5 \times 10^9/\text{л}$  при условии отсутствия стимуляции кроветворения с помощью ростовых факторов и достижения полного или смешанного донорского химеризма.

Донорский химеризм после алло-ТГСК выявляли с помощью метода фрагментного анализа аллелей высокополиморфных маркеров (STR) (капиллярный электрофорез) в лаборатории трансплантологии и молекулярной гематологии (зав. лабораторией к.м.н. Бархатов И.М.). Донорский химеризм оценивался как «полный» при достижении уровня  $>95\%$ , стабильным смешанным химеризм считался в диапазоне от 90% до 95%. Химеризм оценивался в стандартные сроки после ТГСК (Д+30, Д+60, Д+100, Д+180, Д+365), а также при развитии гипофункции трансплантата, подозрении на рецидив основного заболевания.

Неприживлением трансплантата считалось отсутствие восстановления нейтрофильного ростка, менее 5% донорских клеток при определении химеризма, а также реконституция собственного кроветворения пациента.

Ремиссионный статус перед алло-ТГСК оценивался для острых лейкозов в соответствии с критериями LeukemiaNet, Международной Рабочей Группы по изучению и лечению миелопролиферативных заболеваний и Европейской LeukemiaNet для ПМФ и МДС/МПН, Европейской LeukemiaNet 2013 и NCCN 2018 для хронического миелолейкоза, RECIP 2017 для лимфом. Оценка статуса ремиссии с выполнением цитологического, цитогенетического, молекулярно-биологического исследований (RQ-PCR до алло-ТГСК, RQ-PCR и STR после алло-ТГСК) проводилась всем пациентам до начала режима кондиционирования, после алло-ТГСК на Д +30, +60, +100, +180, +365, +548, +730 или при появлении подозрения на развитие рецидива заболевания.

Полный ответ на терапию тГФТ документировался следующим образом: полный или стабильный смешанный донорский химеризм  $>90\%$ , отсутствие

признаков основного заболевания, уровень тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ , АЧН  $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$ , и уровень гемоглобина  $\geq 100$  г/л.

Частичным ответом на терапию считалось достижение как минимум двух из следующих параметров: уровень тромбоцитов  $> 20 \times 10^9/\text{л}$ , АЧН  $\geq 0,5 \times 10^9/\text{л}$  и/или уровень гемоглобина  $> 70$  г/л при сохранении полного или стабильного смешанного донорского химеризма  $> 90\%$  и отсутствии признаков основного заболевания.

Срезово исследовалось восстановление нормального функционирования гемопоэза в группах больных с ТАА, МДС и МПН на дни 30, 100 и 365 после алло-ТГСК.

Отторжение документировалось при снижении донорского химеризма менее 20% на фоне аплазии, при персистенции панцитопении или восстановлении собственного гемопоэза пациента.

Рецидивом основного заболевания для острых лейкозов считалось повышение уровня бластных клеток в костном мозге более 5% и/или появление экстрамедуллярных очагов в сочетании с утратой донорского химеризма; для ХМЛ: появление Ph-позитивного клона при кариотипировании в сочетании с утратой донорского химеризма; для МДС: появление морфологических черт дисплазии и/или выявление патологического клона при кариотипировании и/или повышение уровня бластов в костном мозге более 5% в сочетании с утратой донорского химеризма; для ПМФ: повышение уровня бластных клеток в костном мозге более 5% и/или рост размеров селезенки в сочетании с утратой донорского химеризма; для ЛПЗ: появление очагов de novo или рост лимфатических узлов в сочетании или без снижения уровня донорского химеризма.

Сепсис и тяжелый сепсис, синдром синусоидальной обструкции/веноокклюзионную болезнь (ССО/ВОб) и посттрансплантационную тромботическую микроангиопатию (ТМА) диагностировали с учетом международных рекомендаций [68, 155, 156]. Классификация тяжести кровотечений производилась по Н.А. Яицкому [26].

### 2.3. Характеристика доноров гемопоэтических стволовых клеток

Распределение по виду выполненной алло-ТГСК выполнялось в зависимости от типа донора и HLA-совместимости донора и пациента. Алло-ТГСК от родственного донора проводили пациентам, имеющим идентичного по HLA-антигенам сиблинга или частично HLA-совместимого родственника в семье (в качестве альтернативного вида ТГСК в случаях отсутствия HLA-совместимых родственных и неродственных доноров при наличии медицинских показаний к проведению алло-ТГСК).

Родственная алло-ТГСК выполнена у 235 пациентов (33%), при этом алло-ТГСК от родственного полностью HLA-совместимого донора – у 202 пациентов (28%), у 33 пациентов (5%) – алло-ТГСК от родственного частично HLA-совместимого (гаплоидентичного) донора. В качестве гаплоидентичного донора выступали не только родители, но и другие гаплоидентичные родственники.

Типирование HLA-антигенов реципиента и членов его семьи осуществляли в лаборатории тканевого типирования ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова (заведующая – Иванова Н.Е.).

Для пациентов, не имеющих HLA-совместимых сиблингов, поиск неродственных доноров осуществляли в Международном регистре доноров (руководитель – Алянский А.Л.). При подготовке к неродственной алло-ТГСК выполняли HLA-типирование пациента и потенциальных доноров, исследовали инфекционный статус донора ГСК, осуществляли забор ГСК костного мозга или аферез СКПК. Подготовку и обследование донора ГСК и трансплантата ГСК осуществляли в клиниках, аккредитованных EBMT и CIBMTR и имеющих право осуществлять данный вид деятельности.

От неродственных доноров выполнено 475 (67%) алло-ТГСК, из них от частично HLA-совместимых доноров – 100 (14%), от полностью HLA-совместимых доноров – 375 (53%). Другие характеристики доноров обобщены в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика доноров

Параметры	Количество (n)
<b>Возраст донора, медианы (диапазон)</b>	30 (5-63)
<b>Совместимость по полу</b>	
Женщина→женщина	125
Женщина→мужчина	141
Мужчина→мужчина	249
Мужчина→женщина	195
<b>Совместимость по АВО</b>	
Совместимость	320
Большая	149
Малая	160
Смешанная	81
<b>Беременность донора</b>	
Не было (включая мужчин)	633
Одна и более	77

В качестве источника ГСК были использованы: костный мозг у 284 пациентов (40%) или периферическая кровь у 405 пациентов (57%), а также их сочетание у 21 пациента (3%).

Качество трансплантата оценивалось по общему содержанию ядросодержащих клеток, а также количеству CD34+ и CD3+ клеток. Клеточность трансплантата по содержанию CD34+ при выполнении алло-ТГСК от родственного донора составила: при использовании КМ –  $0,3-9,2 \times 10^6/\text{кг}$  веса реципиента (медиана  $2,9 \times 10^6/\text{кг}$ ), СКПК –  $0,9-8,3 \times 10^6/\text{кг}$  веса (медиана –  $5,2 \times 10^6/\text{кг}$ ), комбинация КМ+СКПК –  $1,9-5,9 \times 10^6/\text{кг}$  веса (медиана –  $3,5 \times 10^6/\text{кг}$ ). При неродственной алло-ТГСК клеточность трансплантата была следующей: КМ –  $1,0-11 \times 10^6/\text{кг}$  веса реципиента (медиана –  $3,5 \times 10^6/\text{кг}$ ), СКПК –  $1,1-12 \times 10^6/\text{кг}$  веса (медиана –  $6,0 \times 10^6/\text{кг}$ ). Характеристика клеточного состава трансплантата в зависимости от источника ГСК и вида алло-ТГСК представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика клеточного состава трансплантата в зависимости от используемого источника ГСК и вида алло-ТГСК

Источник ГСК, медиана (диапазон)	СКПК (n=405)	КМ (n=284)	СКПК + КМ (n=21)
<b>Родственный донор (n=202)</b>			
NC×10 <sup>8</sup> /кг	14,2 (5,3-75,4)	5,9 (2,4-51)	9,6 (1,8-106,6)
CD34+×10 <sup>6</sup> /кг	5,2 (0,9-8,3)	2,9 (0,3-9,2)	3,5 (1,9-5,9)
CD3+×10 <sup>7</sup> /кг	21 (0,4-81)	3,6 (0,9-40)	17 (10-18)
<b>Неродственный донор (n=475)</b>			
NC×10 <sup>8</sup> /кг	11 (2,8-29,4)	5,3 (1,2-13)	-
CD34+×10 <sup>6</sup> /кг	3,5 (1,0-11)	6,0 (1,1-12)	-
CD3+×10 <sup>7</sup> /кг	22 (1,2-81)	3,3 (0,4-71)	-
<b>Гаплоидентичный донор (n=33)</b>			
NC×10 <sup>8</sup> /кг	8 (5-10)	5,8 (1,8-8)	6,3 (2-18)
CD34+×10 <sup>6</sup> /кг	8 (5,5-17)	3,5 (1,6-10)	5,5 (2,8-10)
CD3+×10 <sup>7</sup> /кг	16 (2,4-39)	3,9 (2,3-6,5)	3,5 (1,7-5,2)

#### 2.4. Режимы подготовки к аллогенной ТГСК

Миелоаблативными режимы кондиционирования (МАК) (n=215, 30%) считались при применении дозы перорального бусульфана  $\geq 10$  мг/кг (n=211), в 4 случаях применялись другие алкилирующие агенты. В МАК на основе бусульфана использованы следующие сочетания: бусульфан – циклофосфамид (n=117, 16%), бусульфан – флюдарабин (n=78, 11%), бусульфан – другие агенты (n=16, 2%).

К режимам кондиционирования с редуцированной интенсивностью (РИК) (n=495, 70%) были отнесены следующие: бусульфан-содержащие с дозой бусульфана  $< 10$  мг/кг (n=391, 55%), мелфалан-содержащие, доза 120-140 мг/м<sup>2</sup> (n=35, 5%), бендамустин-содержащие (n=50, 7%), а также другие флюдарабин- и мелфалан-содержащие схемы (n=19, 3%) [30] (таблица 4).



Таблица 4 – Варианты режимов кондиционирования

Наименование препаратов	Суммарные дозы препаратов	Количество (n)
<b>МАК n=215</b>		
Циклофосфамид	100-120 мг/кг	117
Бусульфан	10-16 мг/кг	
Флюдарабин	180 мг/м <sup>2</sup>	78
Бусульфан	10-16 мг/кг	
Другие	–	20
<b>РИК n=495</b>		
Бусульфан	8 мг/кг	362
Флюдарабин	180 мг/м <sup>2</sup>	
Флюдарабин	90 мг/м <sup>2</sup>	48
Бендамустин	390 мг/м <sup>2</sup>	
Флюдарабин	180 мг/м <sup>2</sup>	31
Мелфалан	120-140 мг/м <sup>2</sup>	
Бусульфан	8 мг/кг	27
Флюдарабин	180 мг/м <sup>2</sup>	
Даунорубицин	80 мг/м <sup>2</sup>	
Цитарабин	8000 мг/м <sup>2</sup>	
<b>Другие</b>	–	27

## 2.5. Профилактика реакции «трансплантат-против-хозяина»

Профилактика РТПХ проводилась с использованием иммуносупрессивных препаратов в соответствии со стандартами международных протоколов алло-ТГСК. В качестве базовой иммуносупрессивной терапии использовались ингибиторы кальциневрина: циклоспорин (ЦсА) или такролимус (Тс) в монорежиме или в сочетании с короткими курсами метотрексата (Мт) и микофенолатамофетила (ММФ). АТГ-содержащие режимы были проведены в 236 случаях, при этом в большинстве случаев использовался лошадиный АТГ (n=222). Посттрансплантационный циклофосфамид был применен у 319 пациентов. Варианты иммуносупрессивной терапии отражены в таблице 5.

Таблица 5 – Варианты профилактики РТПХ

Наименование препаратов	Суммарные дозы препаратов	Количество (n)
<b>АТГ-содержащие</b>		
Лошадиный АТГ Циклоспорин А ± другое	40-90 мг/кг 3 мг/кг	49
Лошадиный АТГ Такролимус ± другое	40-90 мг/кг 0,03 мг/кг	173
Кроличий АТГ Циклоспорин А/такролимус ± другое	5-7,5 мг/кг 3 мг/кг /0,03 мг/кг	14
Сочетание АТГ с циклофосфамидом ± другое	–	15
<b>Посттрансплантационный циклофосфамид</b>		
Циклофосфамид в монорежиме	100 мг/кг	91
Циклофосфамид Циклоспорин А/такролимус	100 мг/кг 3 мг/кг /0,03 мг/кг	10
Циклофосфамид ± Циклоспорин А/такролимус ± другое	100 мг/кг 3 мг/кг /0,03 мг/кг	228
<b>Ингибиторы кальциневрина</b>		117
Циклоспорин А/такролимус ± другое	3 мг/кг /0,03 мг/кг	
<b>Другое</b>	–	13

## 2.6. Применение агонистов тромбопоэтина у пациентов с тяжелой ГФТ после алло-ТГСК

В данную группу вошли 310 взрослых пациентов (9 случаев из ретроспективного анализа, и 22 случая проспективного наблюдения) с медианой возраста 22 (18-56) года, получившие терапию агонистами рТПО по поводу цитопении в посттрансплантационном периоде.

Критерии включения несколько отличались от критериев определения тГФТ, а именно в данную группу вошли пациенты: с наличием

тромбоцитопении  $<20 \times 10^9/\text{л}$  без или в сочетании с критериальной цитопенией в других линиях; с полным или стабильным смешанным донорским химеризмом  $\geq 90\%$ ; отсутствием рецидива заболевания и отторжения трансплантата.

Наличие тяжелой РТПХ не являлось критерием исключения в данном исследовании. Более подробная характеристика данной группы дана в главе 5, параграф 5.2. Эффективность применения агонистов рТПО.

## **2.7. Статистический анализ**

Все данные в группе анализа частоты тГФТ проанализированы по состоянию на 31 декабря 2018 года. Данные группы терапии агонистами рТПО проанализированы на февраль 2019 г.

Описательная характеристика когорты включала число случаев и пропорции для дискретных факторов, медианы и диапазон значения – для непрерывных величин. Для общей оценки характеристики когорты на основании данных литературы, а также среди параметров, характеризующих исследуемую группу, были выделены базовые факторы, определяемые до ТГСК: связанные с пациентом: пол, возраст, диагноз, статус заболевания, наличие перегрузки железом; связанные с донором: пол, возраст, HLA-совместимость, родство с пациентом, группа крови, беременность; связанные непосредственно с ТГСК: режим кондиционирования, источник трансплантата, клеточность трансплантата, профилактика реакции «трансплантат-против-хозяина»). Среди факторов, влияющих на функцию трансплантата после ТГСК, были выделены: эпизоды вирусных инфекций, наличие оРТПХ 1-2 степени.

Для данных пред- и посттрансплантационных факторов был выполнен анализ таблиц сопряженности. Различия между анализируемыми группами оценивались с помощью точного теста Фишера, хи-квадрат Пирсона и U теста Манн-Уитни для категориальных и количественных характеристик соответственно. Для установления пороговых значений клеточности трансплантата, уровня ферритина до ТГСК применяли ROC-анализ.

Первичными точками оценки были кумулятивная частота тГФТ, трансплантационная летальность без рецидива и общая выживаемость (ОВ). Кумулятивная частота тГФТ рассчитывалась с учетом конкурирующих рисков (смерть, рецидив, тяжелая оРТПХ) от даты приживления до даты наступления критериально значимой цитопении, или даты последнего контакта, даты рецидива основного заболевания или наступления тяжелой РТПХ. Различия кумулятивных частот в группах оценивали с помощью теста Грээ. Трансплантационная летальность без рецидива (ТЛ) оценивалась как смерть от независимых от основного заболевания причин; рецидивировавшие пациенты цензурировались как живые на момент рецидива. Общая выживаемость пациентов (ОВ) оценивалась по методу Каплана-Майера от момента проведения алло-ТГСК до даты последнего контакта или даты смерти. Сравнение выживаемости проводилось при помощи log-rank теста.

Вторичной точкой оценки была кумулятивная частота разрешения тГФТ, которая рассчитывалась от даты дебюта критериальной цитопении до даты восстановления показателей гемопоэза выше критериальных, или даты рецидива или смерти пациента.

Анализ независимых факторов риска гГФТ был проведен в регрессионной модели пропорциональных рисков для конкурирующих событий с помощью теста Вальда и пошагового регрессионного анализа с вычислением отношения рисков (ОР) и 95% доверительных интервалов (95% ДИ). В многофакторный анализ включались параметры со значением  $p < 0,05$  в однофакторном анализе.

Тестирование альтернативной гипотезы было двусторонним, статистически значимым при значении  $p < 0,05$ . Статистический анализ выполнен в программах SAS, версия 9.3 (Cary, NC, США), NCSS 2007 (Kaysville, UT, США), свободной статистической среде EZR, версия 2.15.2 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия).

## ГЛАВА 3. ЧАСТОТА, ХАРАКТЕРИСТИКА И ИСХОДЫ ТЯЖЕЛОЙ ГФТ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК

### 3.1. Частота тяжелой гипофункции трансплантата в общей когорте

В данный анализ включено 710 пациентов с документированным приживлением трансплантата после алло-ТГСК. На момент проведения анализа живы 401 человек (56%). Медиана наблюдения в общей группе составила 621 (16-3449) дней. Тяжелая ГФТ развилась у 103 (14,5%) пациентов с общей кумулятивной частотой 15% (95%, ДИ 12-18). При этом имела место зависимость частоты возникновения тГФТ от времени. Кумулятивная частота тГФТ с учетом конкурирующих рисков составила 11% (95% ДИ, 9-14) и 14% (95% ДИ, 12-17) на 100 и 365 день соответственно (рисунок 1).

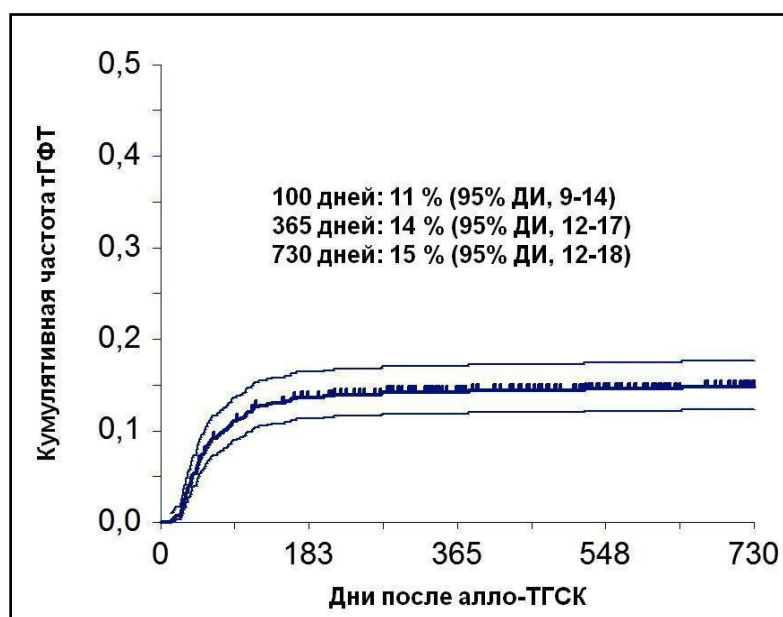


Рисунок 1 – Кумулятивная частота тяжелой гипофункции трансплантата.

Медиана наблюдения после развития тГФТ – 360 (6-2134) дней. Однако после 365 дня диагностировано только 3 случая, при которых причиной тГФТ послужила манифестная ЦМВ-болезнь, закончившаяся летальным исходом. Медиана времени между алло-ТГСК и дебютом тГФТ составила 50 (13-641) дней.

### 3.2. Клиническая характеристика тяжелой гипофункции трансплантата

Группа пациентов с тГФТ не отличалась от группы сравнения по полу, возрасту на момент ТГСК, медиане времени от постановки диагноза до проведения ТГСК, режимам кондиционирования, клеточности трансплантата. Медиана достижения уровня АЧН более  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  у пациентов с тГФТ ( $n=103$ ) составила 20 дней (9-44), что не отличалось от таковой у пациентов с нормальной функцией ( $n=314$ ) – 19 (10-42) дней,  $p=0,154$ .

Однако были выявлены различия, касающиеся спектра основных диагнозов, статуса заболевания на момент ТГСК и типа донора, использованного для алло-ТГСК. При анализе состава диагнозов в группе тГФТ большую долю занимали миелопролиферативные заболевания и МДС, а в случае острых лейкозов – группа тГФТ характеризовалась большей частотой ТГСК в активной фазе заболевания. У пациентов с тГФТ имел место более высокий уровень ферритина на момент ТГСК. Также у пациентов, развивших тГФТ, в 4 раза чаще проводилась гаплоидентичная ТГСК и в качестве источника трансплантата чаще использовалась комбинация КМ и СКПК. В таблице 6 представлена характеристика группы с тГФТ в сравнении с пациентами без нее.

В 81 случаях была диагностирована вновь возникшая тГФТ, дебют которой состоялся как минимум через 30 дней после ТГСК. Медиана длительности тГФТ в таком случае составила 39 дней (6-257). В 22 случаях имело место замедленное восстановление гемопоэза (персистирующая тГФТ), медиана длительности тГФТ при этом была 33 дней (8-140).

При оценке глубины цитопении медиана АЧН ставила  $0,3 \times 10^6/\text{л}$  (0,1-1,9), медиана уровня тромбоцитов – 8 (1-43), медиана уровня гемоглобина – 61 г/л (33-98).

Таблица 6 – Характеристика пациентов с наличием и без тГФТ

Параметр	тГФТ (+) (n=103)	тГФТ (-) (n=607)	p
<b>Возраст</b> , лет, медиана (диапазон)	31 (18-67)	31 (18-70)	0,949
<b>Время до ТГСК</b> , дни, медиана (диапазон)	450 (8-6 695)	439 (17-7 714)	0,244
<b>Пол</b> , n (%)			0,309
Мужской	59	332	
Женский	44	275	
<b>Диагноз</b> , n (%)			<0,001
ТАА	3 (3)	22(4)	
ОМЛ	45 (44)	273(45)	
ОЛЛ	25 (24)	157(26)	
ХМЛ	4 (4)	55(9)	
МДС	11 (10)	24(4)	
ПМФ и ВМФ	6 (6)	8(1)	
МДС/МПН	1 (1)	3(0,5)	
ХММЛ	1 (1)	2(0,5)	
ЛХ	3 (3)	36(6)	
НХЛ	3 (3)	15(2,5)	
ХЛЛ	1 (1)	12(1,5)	
<b>Статус на момент ТГСК при ОЛ</b> , n (%)	n=70	n=430	0,049
Ремиссия	49 (70)	343(80)	
Вне ремиссии	21 (30)	87(20)	
<b>Ферритин</b> , мкг/л, медиана (диапазон) (анализ 351 случая)	929 (68-11470)	574 (3-10 500)	0,002
<b>Донор</b> , n (%)			<0,001
HLA-совместимый сиблинг	20 (18)	182(30)	
Аллогенный неродственный	71 (70)	404(67)	
Гаплоидентичный	12 (12)	21(3)	
<b>АВО-совместимость</b> , n (%) (анализ 693 случаев)			0,04
Совместимые по АВО	38 (37)	277(46)	
Малая, большая, комбинированная несовместимость	65 (63)	313(52)	
<b>Источник трансплантата</b> , n (%)			0,04
КМ	38 (37)	245(40)	
СКПК	58 (57)	348(57)	
КМ и СКПК	7 (7)	14(3)	
<b>Костный мозг</b>			
Количество NC×10 <sup>8</sup> /кг	6,25 (1,2-14)	5,5 (0,8-23)	0,436
Количество CD34+×10 <sup>6</sup> /кг	3,0 (1,2-10)	3,2 (0,3-11)	0,260
Количество CD3+×10 <sup>7</sup> /кг	2,85 (0,5-16)	2,9 (0,4-71)	0,947

Продолжение таблицы 6.

Параметр	тГФТ (+) (n=103)	тГФТ (-) (n=607)	p
<b>СКПК</b>			
Количество NC×10 <sup>8</sup> /кг	6,1 (2,0-22)	5,9 (1,8-25)	0,711
Количество CD34+×10 <sup>6</sup> /кг	6,0 (1,5-17)	6,0 (0,9-12)	0,548
Количество CD3+×10 <sup>7</sup> /кг	23 (2,4-66)	20(1,2-81)	0,116
<b>КМ и СКПК</b>			
Количество NC×10 <sup>8</sup> /кг	3,6 (2,0-8,6)	6,2 (4,0-18)	0,240
Количество CD34+×10 <sup>6</sup> /кг	5,1 (2,8-7,0)	5,0 (2,9-10)	0,970
Количество CD3+×10 <sup>7</sup> /кг	3,2 (2,4-66)	10 (1,8-5,0)	0,185
<b>Кондиционирование, n (%)</b>			0,441
Миелоаблативное	30 (29)	185 (30)	
Со сниженной интенсивностью доз	73 (71)	422 (70)	

На момент установления диагноза тГФТ 42 (41%) пациента имели трехростковую цитопению (АЧН  $<0,5 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоциты  $<20 \times 10^9/\text{л}$  или гемоглобин  $<70$  г/л). У остальных 61 (59%) больных имела место цитопения с вовлечением двух ростков гемопоэза: тромбоцитопения и анемия (n=30, 29%), тромбоцитопения и нейтропения (n=25, 24%), а также сочетание нейтропении и анемии (n=6, 6%) (рисунок 2).

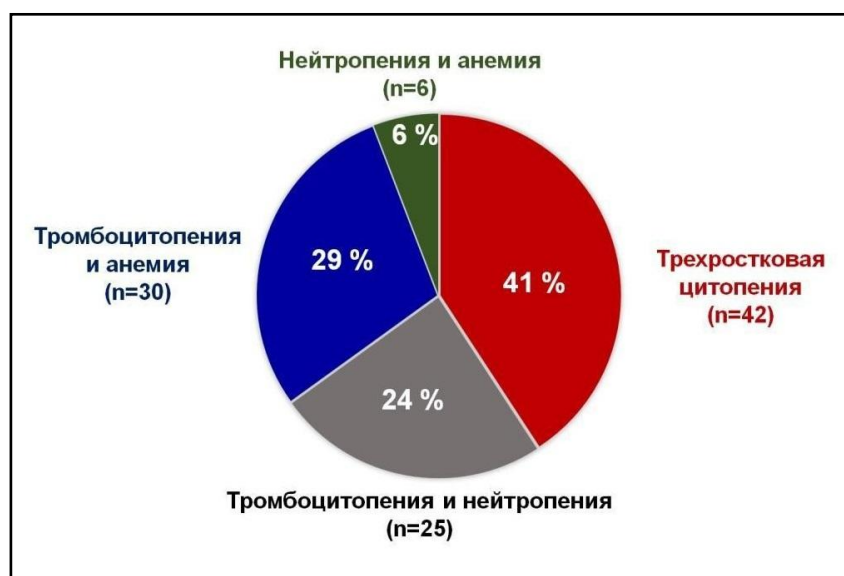


Рисунок 2 – Распределение пациентов с тГФТ по вовлеченным линиям гемопоэза.



При анализе связи между количеством вовлеченных линий гемопоэза и интенсивности режимов кондиционирования прослеживалась тенденция к преобладанию трехлинейной цитопенией при МАК: 47% против 27% соответственно,  $p=0,068$ .

Тяжелая ГФТ была ассоциирована с развитием инфекционных осложнений в 21 (20%) случаях. Тяжелые кровотечения  $\geq 3$  степени в период тГФТ развились у двух больных (2%).

У всех пациентов с тГФТ были выявлены те или иные сопутствующие состояния, потенциально инициирующие или углубляющие цитопению: инфекции (в том числе вирусные), иммунные цитопении (причем критериально доказанная парциальная красноклеточная аплазия анализировалась отдельно), посттрансплантационная тромботическая микроангиопатия и веноокклюзионная болезнь, а также комбинации факторов. При анализе их роли для восстановления функции трансплантата ни одно из данных состояний не оказывало статистически значимого влияния, однако прослеживались тренды ухудшения восстановления функции трансплантата при сепсисе и иммунных осложнениях: 14% (95% ДИ, 2-37) против 88% (95% ДИ, 67-96),  $p=0,192$  и 71 (95% ДИ, 56-94) против 88 (95% ДИ, 69-96),  $p=0,181$  соответственно.

Значимую роль для разрешения тГФТ играл диагноз. Восстановление происходило чаще у пациентов с ТАА, ХМЛ и МДС/МПН: 100%, 75% (95% ДИ, 1-99) и 74% (95% ДИ, 45-89) соответственно. В случае острых лейкозов в ремиссии и при лимфопролиферативных заболеваниях разрешение тГФТ происходило только в половине случаев: 50% (95% ДИ, 34-64) и 50% (95% ДИ, 3-87). У пациентов с диагнозом острый лейкоз и при отсутствии ремиссии на момент алло-ТГСК восстановление функционирования трансплантата после тГФТ наблюдалось наиболее редко: 19% (95% ДИ, 6-39).

Отдельный анализ был выполнен для оценки соотношения общей выживаемости и доли пациентов с тГФТ среди выживших к году после ТГСК (рисунок 3).

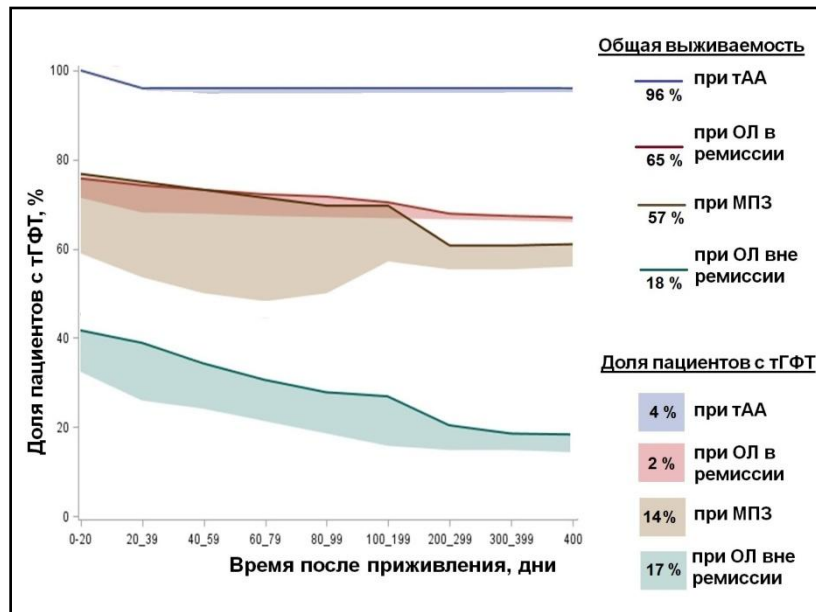


Рисунок 3 – Соотношение общей выживаемости и доли пациентов с тГФТ в течение года после алло-ТГСК.

Данный анализ выявил худшую выживаемость и относительно высокий процент тГФТ среди пациентов с ОЛ вне ремиссии (18 % и 17 % соответственно), выживаемость при МПЗ была сравнима с ОЛ в ремиссии, несмотря на сохраняющуюся большую долю пациентов с тГФТ. При ТАА доля пациентов с тГФТ была минимальной, а выживаемость наиболее высокой.

### 3.3. Исходы тяжелой гипофункции трансплантата

В ходе оценки исходов тяжелой ГФТ были выделены 4 варианта: разрешение гипофункции (в том числе с критериальным восстановлением нормального гемопоэза), отторжение трансплантата, рецидив основного заболевания, смерть пациента.

В 55 случаях (53%) из всех пациентов с тГФТ было документировано разрешение тГФТ, из них 3 случая – после повторной ТГСК, 9 случаев – после введения ГСК без или на фоне продолжающейся иммуносупрессивной терапии. В группе разрешившейся тГФТ медиана АЧН составила  $2,5 \times 10^9/\text{л}$  (1,1-8,1), меди-

на уровня тромбоцитов –  $129 \times 10^9/\text{л}$  (25-312), гемоглобина – 120 г/л (77-180). В остальных случаях имелись неблагоприятные исходы тГФТ: смерть (n=28), рецидив (n=14, медиана 73 дня от дебюта тГФТ), отторжение трансплантата (n=6, медиана 52 дня от дебюта тГФТ).

Подавляющее число летальных исходов тГФТ были связаны с тяжелыми инфекционными осложнениями – 89% (n=25). Только в 1 (4%) случае причиной смерти стало кровотечение. В 2 (7%) случаях причина смерти не известна.

Сроки возникновения в меньшей степени влияли на исход, чем количество вовлеченных ростков. Рецидивы чаще имели место при вновь возникшей гипопункции, что вероятно связано в том числе с тем, что сверхранные рецидивы\прогрессия злокачественного заболевания после аллотГСК служили критерием исключения из исследования (рисунок 4). Кумулятивная частота разрешения ранней тГФТ была выше в сравнении с отсроченной тГФТ: 74% (n=15) против 51% (n=42),  $p=0,02$ .

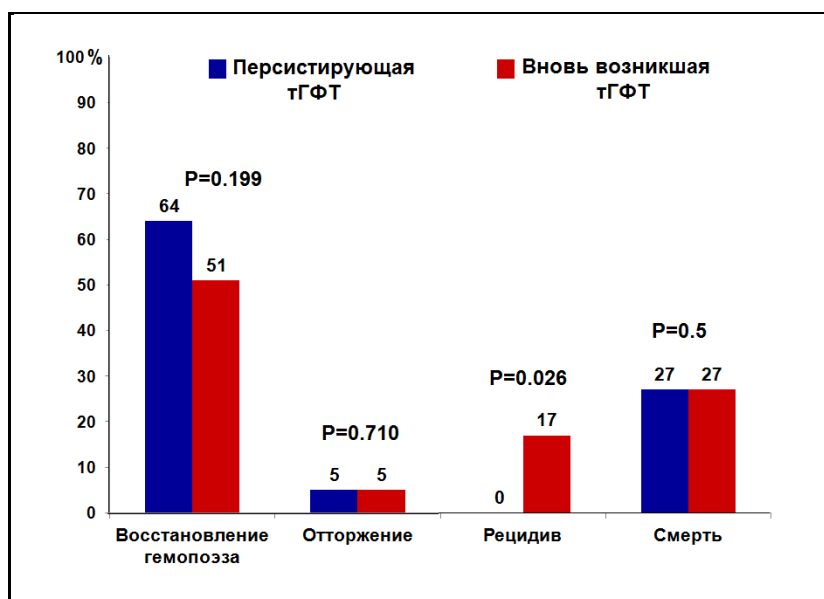


Рисунок 4 – Исходы тГФТ в зависимости от времени дебюта осложнения.

В случае двухростковой цитопении частота разрешения тГФТ была выше по сравнению с трехростковой: 64% (n=39) против 29% (n=15) пациентов,  $p<0,001$ . Напротив, отторжение трансплантата и летальные исходы имели место

чаще при вовлечении всех трех ростков: 5 (12%) против 1 (2%) ( $p=0,04$ ) и 19 (45%) против 9 (15%) ( $p=0,01$ ) соответственно. Частота рецидивов не зависела от количества вовлеченных ростков: 12 (19%) против 6 (14%),  $p=0,332$ ) (рисунок 5).

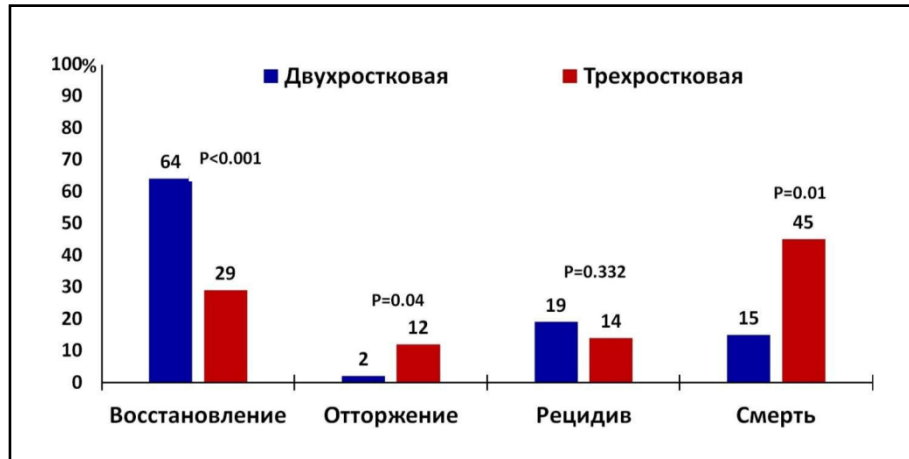


Рисунок 5 – Исходы тГФТ в зависимости от количества вовлеченных линий гемопоэза.

Был выполнен ретроспективный анализ данных 43 случаев из групп с предполагаемым наиболее высоким риском тГФТ при МДС/МПН ( $n=18$ ) в сравнении с ТАА ( $n=25$ ). Срезом на Д+30, Д+100 и Д+365 были оценены данные клинического анализа крови, миелограммы, донорского химеризма. Было продемонстрировано более быстрое приживление у пациентов с ТАА, меньшая доля случаев тГФТ, а также более быстрая динамика восстановления отдельных ростков гемопоэза.

Медиана приживления для пациентов с ТАА составила 20 (14-28) дней, для ПМФ – 27 (16-137) дней (рисунок 6).

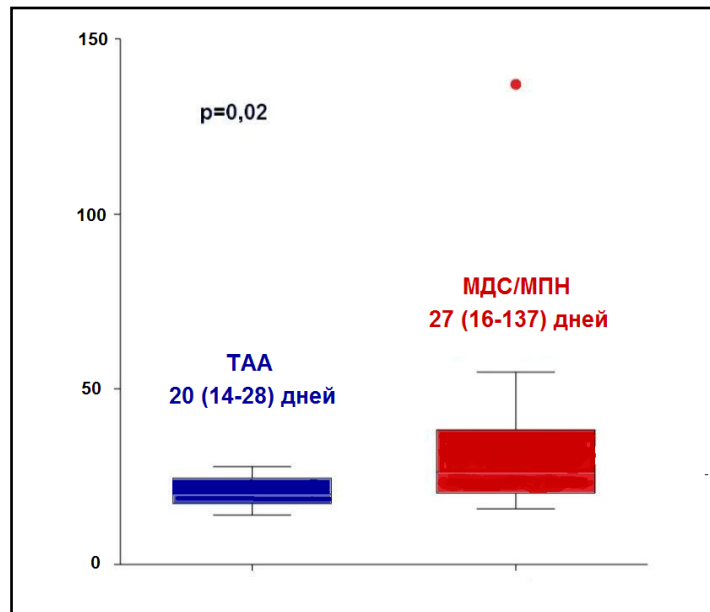


Рисунок 6 – Медиана времени приживления у пациентов с ТАА в сравнении с МДС/МПН.

Динамика роста показателей периферической крови была выше у пациентов с ТАА, к Д+365 уровни показателей гемограммы были схожи у пациентов в обеих группах, отличие сохранялось лишь по тромбоцитарному росту (рисунок 7).

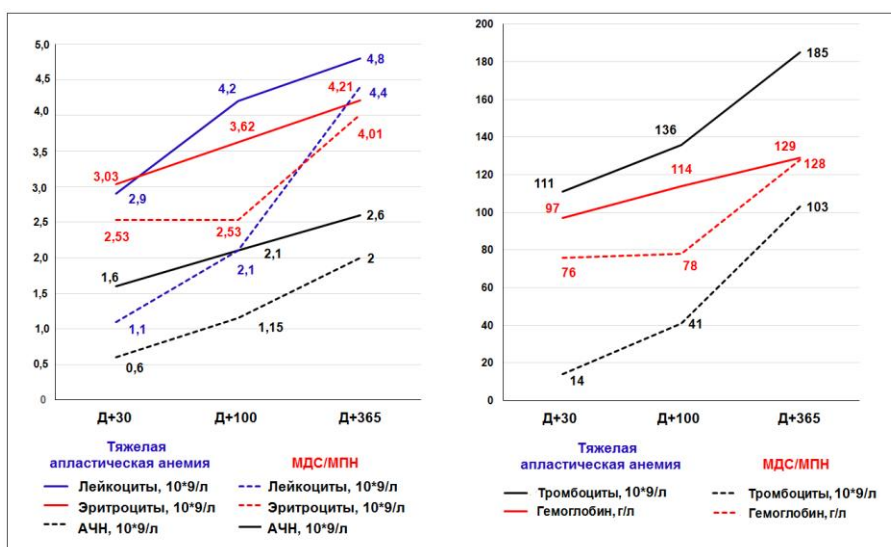


Рисунок 7 – Динамика роста показателей периферической крови у пациентов с ТАА и МДС/МПН.

Доля случаев, соответствовавших критериям тГФТ, в группе МДС/МПН была выше, чем в группе ТАА: 7 (39%) против 3 (12%). При этом в 2 случаях у пациентов с ТАА для лечения тГФТ использовалась повторная трансфузия ГСК без режима кондиционирования. У пациентов с МДС/МПН применялись агонисты рТПО (n=3) и трансфузии донорских лимфоцитов (n=1).

### 3.4. Трансплантационная летальность и общая выживаемость при тяжелой гипофункции трансплантата

Медиана наблюдения после алло-ТГСК составила 464 дня (12-1899), медиана наблюдения после развития тГФТ – 300 дней (6-1879).

Трансплантационная летальность в течение 2-х лет достоверно различалась в группе с тГФТ и без нее: 40% (95% ДИ, 29-50) против 25% (95% ДИ, 21-28)  $p=0,007$  (рисунок 8).

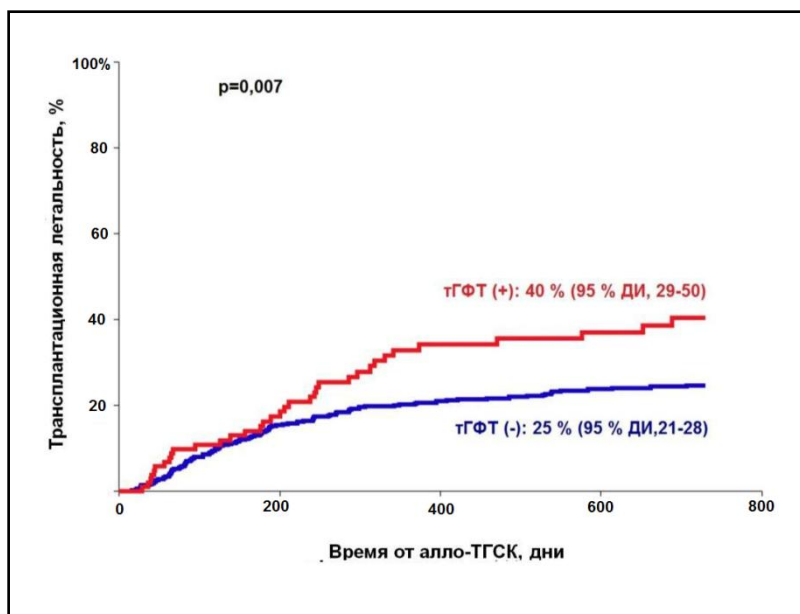


Рисунок 8 – Двухлетняя трансплантационная летальность в зависимости наличия тГФТ.

В связи с высокой гетерогенностью общей группы и с учетом медианы времени наблюдения после алло-ТГСК оценка общей 2-летней выживаемости в

однофакторном анализе проводилась в подгруппах по диагнозам с помощью метода Каплана-Майера.

Влияния тГФТ на выживаемость не было выявлено при ТАА (90% без тГФТ против 100% с тГФТ,  $p=0,597$ ), при лимфопролиферативных заболеваниях (67% в группе без тГФТ 73% против 64%,  $p=0,778$ ), при ХМЛ (64% без тГФТ против 75% при тГФТ,  $p=0,763$ ), при миелопролиферативных заболеваниях и МДС (61% против 67%,  $p=0,535$ ). при острых лейкозах вне ремиссии (26% без тГФТ против 19% в группе с тГФТ,  $p=0,587$ ). Однако в наиболее многочисленной группе пациентов с острыми лейкозами, трансплантированных в ремиссии, наличие тГФТ достоверно ухудшало выживаемость: 67% (95% ДИ, 61-72) без тГФТ против 45% (95% ДИ, 30-56) при тГФТ,  $p=0,003$ .

## ГЛАВА 4. ФАКТОРЫ РИСКА ТЯЖЕЛОЙ ГИПОФУНКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА

### 4.1. Факторы риска тяжелой ГФТ и сопутствующие состояния

Для выявления потенциальных предикторов тГФТ был проведен однофакторный и многофакторный анализ. Среди параметров, характеризующих исследуемую группу, были выделены базовые факторы, определяемые до ТГСК. Они подразделялись на факторы, связанные с пациентом (пол, возраст, диагноз, статус заболевания, наличие перегрузки железом), связанные с донором (пол, возраст, HLA-совместимость, родство с пациентом, группа крови, беременность), а также факторы, связанные с трансплантацией (режим кондиционирования, источник трансплантата, клеточность трансплантата, профилактика реакции «трансплантат-против-хозяина»).

Предполагаемые причины тГФТ у каждого пациента были классифицированы на основании клинической ассоциации посттрансплантационных осложнений с тГФТ за последние 4 недели в сочетании с лабораторно-инструментальным подкреплением в возможных случаях. При анализе группы пациентов, отвечающих критериям тГФТ было выявлено, что во всех случаях тГФТ имело место то или иное сопутствующее состояние, которое потенциально могло быть причиной или триггером тГФТ.

В большинстве случаев это были инфекционные эпизоды (n=70, 68%) с преобладанием вирусной реактивации (n=60, 58%). При этом документированный тяжелый сепсис имел место у 10 пациентов (9,7%).

В 8 случаях (7,7%) ведущей потенциальной причиной тГФТ была ПККА без (n=5) или в сочетании с вирусной инфекцией (n=3). У 6 пациентов (5,8%) имела место посттрансплантационная ТМА/ВОБ, из них в 1 случае в сочетании с вирусной инфекцией. Имунные цитопении, соответствующие критериям тГФТ за исключением ПККА наблюдались в 5 случаях (4,8%). У одного пациента тГФТ развилась на фоне ОРТПХ 2 степени.



У пациентов с тГФТ данные сопутствующие состояния имели место как самостоятельные эпизоды и в различных комбинациях. В целом в 25 случаях (24%) имела место комбинация нескольких состояний.

Вирусные инфекции были доминирующим состоянием, ассоциированным с развитием тГФТ, причем они преобладали на ранних сроках: 73% против 53% ( $p=0,099$ ). На фоне ТМА/ВОБ ( $n=4$ , 3,5%) диагностировалась только вновь возникшая тГФТ (таблица 7).

Таблица 7 – Связь сопутствующих состояний и времени дебюта тГФТ после алло-ТГСК

Сопутствующие состояния	Персистирующая тГФТ, n (%)	Вновь возникшая тГФТ, n (%)	p
Всего	22	81	
Вирус-ассоциированная	14 (64)	41 (53)	0,099
Сепсис-ассоциированная	3 (14)	4 (3,5)	0,286
ТМА/ВОБ	–	4 (3,5)	–
Иммунная цитопения*	2 (9)	10 (12)	0,424
Комбинация сопутствующих состояний	3 (14)	22 (28)	0,697

Примечание – \* – включены случаи с ПККА и оРТПХ 1-2 степени.

При анализе зависимости длительности тГФТ от сопутствующих состояний наличие инфекции ассоциировалось с длительностью тГФТ менее 30 дней в 67% против 56% случаев ( $p<0,0001$ ), в то время как иммунная цитопения и комбинация триггеров были связаны с длительностью тГФТ более 30 дней в 12,5% против 10% случаев ( $p=0,002$ ) и 22% против 12% случаев ( $p<0,0001$ ) соответственно (таблица 8).

Таблица 8 – Связь сопутствующих состояний и длительности тГФТ

Сопутствующие состояния	Длительность тГФТ менее 30 дней, n (%)	Длительность тГФТ более 30 дней, n (%)	p
Всего	39	64	
Наличие инфекционных эпизодов	26(67)	36(56)	<0,0001
ТМА/ВОБ	1(2,5)	3(4)	0,25
Иммунная цитопения	4(10)	8(12,5)	0,002
Комбинация сопутствующих состояний	8(20,5)	17(26,5)	<0,0001

Для анализа посттрансплантационных факторов риска влияющих на функцию трансплантата после ТГСК, были выделены эпизоды вирусных инфекций, наличие ОРТПХ 1-2 степени, наличие эпизодов тяжелого сепсиса и эндотелиопатий.

#### **4.2. Однофакторный анализ потенциальных предикторов и посттрансплантационных факторов, ассоциированных с тяжелой ГФТ**

С учетом наличия конкурирующих событий и зависимости тГФТ от времени после ТГСК анализ факторов риска был проведен с помощью оценки кумулятивной частоты. В однофакторный анализ были включены характеристики, касающиеся пациента, трансплантации и посттрансплантационные факторы.

При проведении анализа не было выявлено зависимости двухлетней кумулятивной частоты тГФТ ни от возраста или пола пациента и донора, ни от наличия вирусов у донора, ни от клеточности трансплантата. Интенсивность режима кондиционирования также не влияла на частоту тГФТ.

В однофакторном анализе было выявлено различие кумулятивной частоты тГФТ для пациентов с разными диагнозами. Наибольшая кумулятивная частота тГФТ наблюдалась у пациентов с миелопролиферативными заболеваниями: МДС, МДС/МПЗ, ПМФ. Между остальными нозологическими группами внутри группы МПЗ не было статистически значимой разницы между частотой тГФТ. Таким образом с учетом гетерогенности анализируемой когорты и

показаний к алло-ТГСК, а также необходимости базовой стратификации были выделены и в дальнейшем анализированы две группы пациентов, различающихся по кумулятивной частоте развития тГФТ: 1) ТАА, острые лейкозы, ХМЛ, лимфомы; 2) МДС, МДС/ХМПЗ, ПМФ с 2-летней кумулятивной частотой 13% (95% ДИ, 11-16) против 34% (95% ДИ, 22-46) соответственно ( $p < 0,001$ ) (рисунок 8).

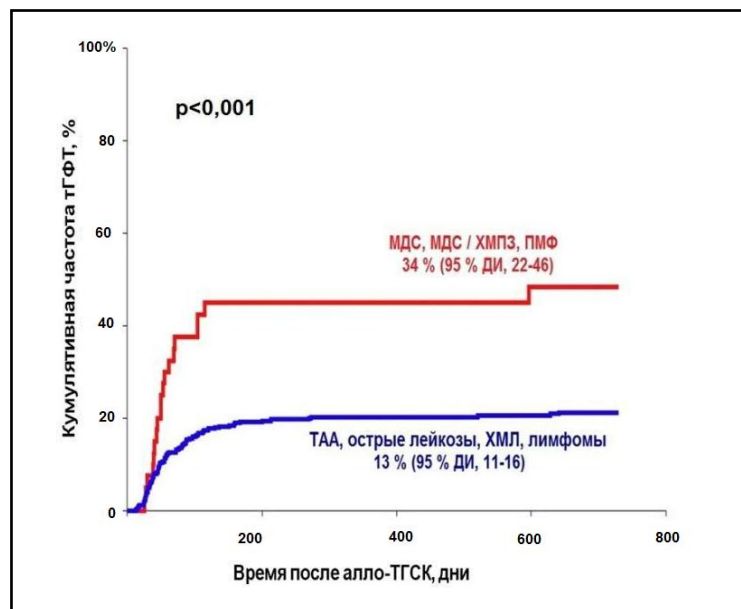
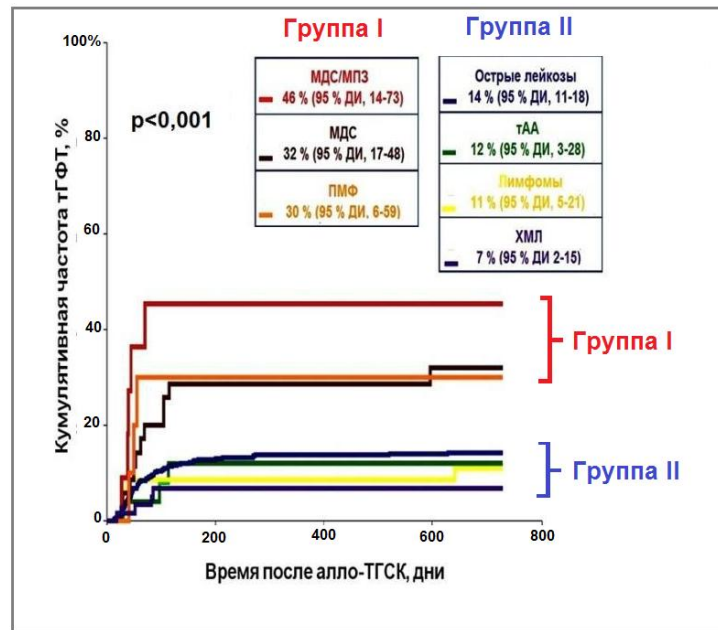


Рисунок 8 – Кумулятивная частота тГФТ в зависимости от диагноза.

Статус на момент алло-ТГСК анализировался для злокачественных заболеваний. Были выделены две группы: 1) пациенты в ремиссии и 2) пациенты с активным заболеванием с кумулятивной частотой тГФТ 12% (95% ДИ, 9-15) против 21% (95% ДИ, 16-27) соответственно,  $p=0,003$  (рисунок 10).

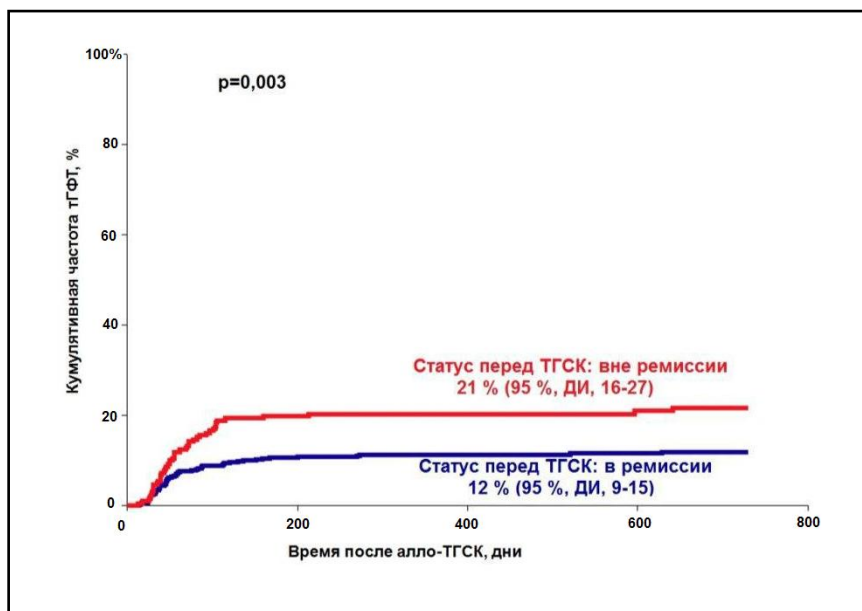


Рисунок 10 – Кумулятивная частота тГФТ в зависимости от статуса заболевания.

Оценка уровня ферритина до ТГСК в качестве фактора риска тГФТ была проведена у 351 пациента (49% от всей когорты), преимущественно в проспективной фазе исследования. В ROC-анализе был выявлен пороговый уровень ферритина более 650 нг/мл, ассоциированный с риском тГФТ ( $AUC=0,610$ ) (0,5137-0,6914),  $p=0,007$ , 60% чувствительность, 56% специфичность, 95% ДИ, 53-67). В результате кумулятивная частота тГФТ составила 22% (95% ДИ, 16-28) и 13% (95% ДИ, 9-19) при уровне ферритина на момент ТГСК более и менее 650 мкг/мл соответственно ( $p=0,03$ ).

Кумулятивная частота тГФТ различалась в зависимости от типа донора: 10% (95% ДИ, 6-15) для HLA-идентичных сиблингов, 15% (95% ДИ, 12-19) для неродственных доноров, 37% (95% ДИ, 21-54) для гаплоидентичных доноров,  $p=0,0001$ .

Были обнаружены достоверные различия частоты развития тГФТ в зависимости от источника трансплантата: КМ – 13% (95% ДИ, 10-18), СКПК – 15% (95% ДИ, 12-19) и при их сочетании – 33% (95% ДИ, 14-54) ( $p=0,04$ ).

Анализ влияния АВ0-совместимости пациента и донора с развитием тГФТ не показал значения разных вариантов АВ0-несовместимости: 12% (95% ДИ, 9-16) при АВ0-совместимости, 18% (95% ДИ, 12-25) при малой, 18% (95% ДИ, 12-25) при большой и 16% (95% ДИ, 9-25) при смешанной несовместимости ( $p=0,2$ ). Однако при сравнении АВ0-совместимых ТГСК со всеми вариантами АВ0-несовместимости было выявлено различие: 12% (95% ДИ, 9-16) против 18% (95% ДИ, 14-22) ( $p=0,04$ ). При этом при оценке случаев с большой несовместимостью ( $n=109$ ) доля критериальной тГФТ составила 18% ( $n=20$ ).

Критериям парциальной красноклеточной аплазии (ПККА) соответствовали 11 случаев (1,5%) из всей анализируемой когорты, при этом доля ПККА в структуре тГФТ составила 5% ( $n=5$ ), а в группе без тГФТ – 1% ( $n=6$ ).

Влияние наличия беременностей у донора на кумулятивную частоту тГФТ оценивалось в 158 случаях и увеличивало частоту тГФТ с пограничной достоверностью (17% против 5% в случае наличия и отсутствия беременности соответственно,  $p=0,05$ ).

Профилактика РТПХ достоверно значимо влияла на частоту тГФТ только при гаплоидентичных ТГСК ( $n=33$ ): при использовании АЛГ – 57% (95% ДИ, 11-87), при сочетании АЛГ и птЦФ – 100%, птЦФ – 19% (95% ДИ, 6-39), при других вариантах – 67% (95% ДИ, 0-99),  $p=0,0003$ .

Инфекционные эпизоды достоверно увеличивали частоту тГФТ. При реактивации вирусных инфекций она составила: 19% (95% ДИ, 16-23) против 5% (95% ДИ, 2-9) при отсутствии таковой ( $p<0,001$ ), в случаях документированного тяжелого сепсиса: 26% (95% ДИ, 19-33) против 12% (95% ДИ, 9-15),  $p<0,001$ .

Развитие эндотелиопатии (ТМА или ВОБ) было ассоциировано с повышением частоты тГФТ: 24% (95% ДИ, 14-36) против 14% (95% ДИ, 11-17),  $p=0,03$ .

#### 4.3. Многофакторный анализ потенциальных предикторов посттрансплантационных факторов, ассоциированных с тяжелой ГФТ

В многофакторный анализ были включены оцененные на предыдущем этапе параметры, имевшие значение  $p < 0,05$ . Такие характеристики, как уровень ферритина, наличие беременности, а также профилактика РТПХ не включались в модель в связи с охватом менее 50% когорты.

В многофакторном анализе в общей когорте сохраняли свое значение диагнозы МДС, ПМФ и МДС/МПЗ (ОР 2,983, 95% ДИ, 1,638-5,222,  $p < 0,0001$ ), гаплоидентичный донор (ОР 3,085, 95% ДИ, 1,228-6,921,  $p=0,0061$ ), наличие вирусных инфекций (ОР 3,371, 95% ДИ, 1,657-8,092,  $p=0,002$ ) и сепсис (ОР 1,642, 95% ДИ, 1,063-2,506,  $p=0,03$ ). Несовместимость по группе крови имела лишь пограничное значение, тогда как источник трансплантата и развитие эндотелиопатий утратили свое значение (рисунок 11).

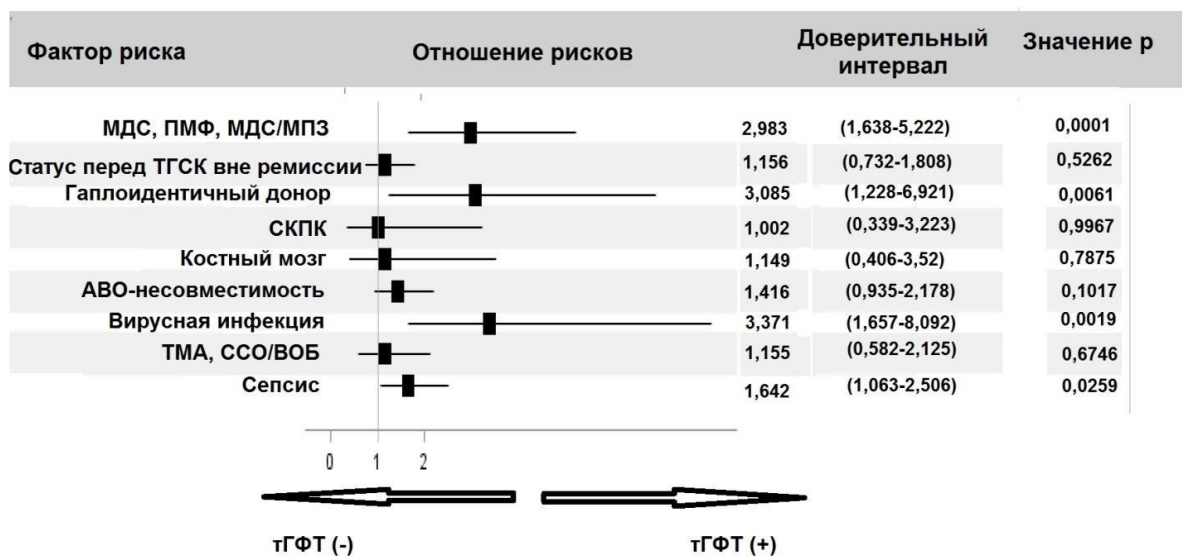


Рисунок 11 – Результат многофакторного анализа.

## ГЛАВА 5. ТЕРАПИЯ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОФУНКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА

Несмотря на то, что в ряде случаев восстановление гемопоэза происходит без дополнительных вмешательств, тяжелая гипофункция трансплантата может приводить к инфекционным осложнениям, удлинению сроков госпитализации, летальным исходам, что делает необходимым поиск эффективных терапевтических опций. В то время как повторная трансплантация это тактика выбора для пациентов с неприживлением или отторжением трансплантата, для тяжелой гипофункции требуется дифференцированный подход к подбору терапии.

### **5.1. Ретроспективный анализ терапии тяжелой гипофункции трансплантата**

Ретроспективно были проанализированы варианты терапевтической тактики, использовавшиеся в НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой для контроля функции трансплантата в случаях посттрансплантационных цитопений, критериально подходивших под определение тГФТ (n=103).

Учитывая разнообразие клинических вариантов проявления и течения ГФТ, применявшиеся в ретроспективном анализе терапевтические тактики не носили систематического характера. При анализе данной когорты было выделено три группы: 1) пациенты, получавшие ростовые факторы по поводу некритериальной цитопении, но развившие впоследствии критериальную тГФТ (n=16); 2) пациенты, получавшие специфическую терапию, направленную на лечение тГФТ, с момента диагностики этого осложнения (n=47); 3) пациенты, получавшие только сопроводительную терапию (отмена миелотоксичных препаратов, трансфузионная поддержка, противовирусная терапия, витаминотерапия, инфузии человеческого иммуноглобулина) (n=40). На блок-схеме, представленной ниже, отображено восстановление гемопоэза и исходы в каждой из групп (рисунок 12).

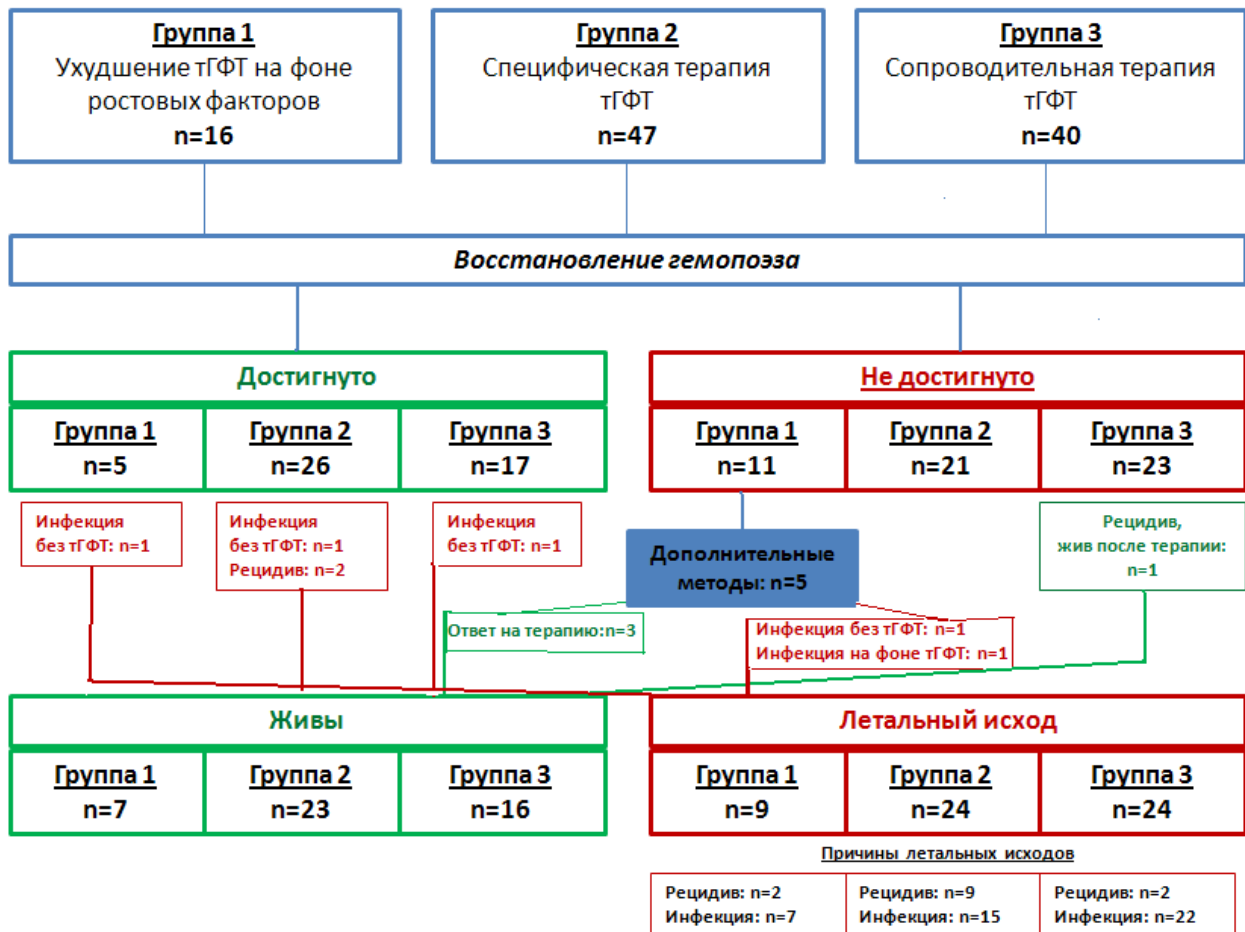


Рисунок 12 – Исходы тГФТ на фоне различных вариантов терапевтической тактики.

Данный анализ отражает естественную селекцию пациентов, с одной стороны, в зависимости от потребности в более интенсивной терапии и успешных дожить до начала более интенсивной терапии, с другой стороны.

Группа, получавшая только сопроводительную терапию, наиболее вероятно отражает естественное течение и исходы тГФТ. Разрешение тГФТ в этой группе имело место у 17 пациентов (43%) с медианой 21 дней (7-111). При этом кумулятивная частота разрешения тГФТ на фоне только сопроводительной терапии составила 40% (95% ДИ, 25-55) к 100 дню после развития тГФТ. В 23 случаях восстановления гемопоэза не произошло. У 2 пациентов в дальнейшем был диагностирован рецидив основного заболевания (1 умер, 1 жив на фоне терапии). Один пациент после восстановления гемопоэза развил тяжелую инфек-



цию, закончившуюся летальным исходом. Всего в группе сопроводительной терапии живы 16 человек (40%). Медиана продолжительности жизни от начала тГФТ до любого исхода в этой группе составила 377 дней (6-1407), при этом у пациентов, восстановивших гемопоэз, медиана продолжительность жизни была в почти в 2 раза больше: 531 (276-1407) дней против 276 (6-828) дней.

В дальнейший анализ были включены пациенты, получавшие ростовые факторы (Г-КСФ, эритропоэтин) и другие варианты терапии тГФТ (ритуксимаб, ТДЛ, трансфузии CD34+ клеток без режима кондиционирования, агонисты рТПО) (n=63). Исходя из предыдущего анализа, в данную группу вошли пациенты, требовавшие более интенсивной терапии на момент диагностики тГФТ, или пациенты, дожившие до применения дополнительного метода лечения. Разрешение тГФТ в этой группе произошло у 35 пациентов (56%). Медиана времени от начала любого вида терапии до разрешения тГФТ составила 27 (3-192) дней. Медиана продолжительности жизни от начала тГФТ до любого исхода в этой группе составила 359 (8-2134) дней (рисунок 13).

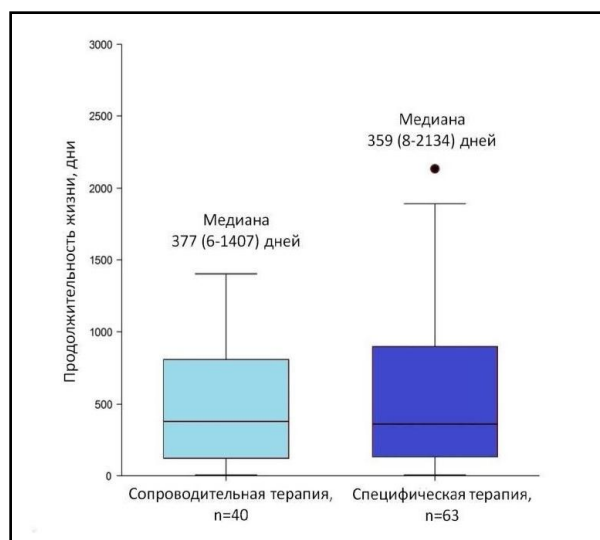


Рисунок 13 – Медианы продолжительности жизни от начала тГФТ до любого исхода.

Для лечения тГФТ использовались следующие варианты терапевтической тактики: ростовые факторы: Г-КСФ и эритропоэтин (n=50), ритуксимаб (n=23),

агонисты рТПО (n=9), ТДЛ (n=11), трансфузии CD34+ клеток без режима кондиционирования (n=14).

Разные варианты тактики в качестве монотерапии использовались в 30 случаях (29%), из них ростовые факторы использовались в 23 случаях, ритуксимаб в 6 случаях, агонисты рТПО и ТДЛ по одному случаю. Трансфузии CD34+ клеток от того же донора без режима кондиционирования в качестве единственной тактики терапии были использованы у двух пациентов. Комбинация или последовательная смена нескольких вариантов лечения имела место в 33 случаях (32%).

Данные варианты терапевтической тактики применялись в разных последовательностях и комбинациях, связи с чем для проведения анализа были выделены сочетания терапии тГФТ на основании ведущего метода. В таблице 9 они систематизированы с указанием доли случаев разрешения тГФТ и процента выживших пациентов.

Таблица 9 – Комбинации методов лечения тГФТ

Комбинации	N	Разрешение тГФТ, n (%)	Живы, n (%)
Ростовые факторы	23	7(30)	8 (35)*
Агонисты рТПО	5	4(80)	1 (20)
Ритуксимаб ± агонисты рТПО ± РФ	12	8(67)	9 (75)**
ТДЛ± ритуксимаб ± агонисты рТПО ± РФ	9	5(56)	4 (44)
CD34+ без кондиционирования ± ТДЛ ± ритуксимаб ± РФ	14	9(64)	8 (57)

Примечание – \* – в том числе 2 пациента после повторной алло-ТГСК по поводу длительной тГФТ; \*\* – в том числе 1 пациент после повторной алло-ТГСК по поводу длительной тГФТ.

Кумулятивная частота разрешения тГФТ с учетом конкурирующих рисков (рецидив, смерть) оценивалась на день 100 от начала терапии и была выше у пациентов, которым проводилась специфическая терапия. Так при анализе

эффективности каждой комбинации методов в отдельности отмечалась тенденция к лучшему разрешению тГФТ при проведении терапии ритуксимабом, применении трансфузий CD34+ клеток без кондиционирования и агонистов рТПО, в то время как ростовые факторы и ТДЛ показали менее значимую эффективность: 80% (95% ДИ, 33-96), 64% (95% ДИ, 30-85), 60% (95% ДИ, 7-91), 40% (95% ДИ, 18-61) и 38% (95% ДИ, 6-71) соответственно. При проведении неспецифической терапии тГФТ разрешилась в 40% (95 5 ДИ, 25-55) ( $p=0,249$ ) (рисунок 13).

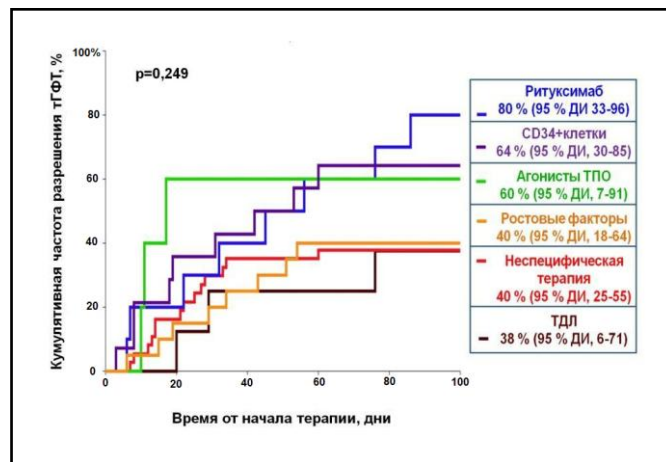


Рисунок 13 – Кумулятивная частота разрешения тГФТ при проведении специфической терапии и без нее.

Трансплантационная летальность, не связанная с рецидивом, на 2 года после ТГСК была наибольшей для пациентов, получивших трансфузии донорских лимфоцитов в разных сочетаниях: 59% (95% ДИ, 15-86), примерно равной при применении ростовых факторов в монорежиме, агонистов рТПО и для пациентов, не получавших специфической терапии: 44% (95% ДИ, 27-64), 40% (95% ДИ, 3-80) и 39 (95% ДИ, 23-54) соответственно; для пациентов, получавших трансфузии CD34+ клеток без кондиционирования: 21% (95% ДИ, 5-46), а в подгруппе терапии с ритуксимабом не было летальных случаев, не связанных с рецидивом ( $p=0,05$ ) (рисунок 14а).

Общая выживаемость на два года после алло-ТГСК была наибольшей при применении ритуксимаба в различных комбинациях и трансфузий CD34+ клеток

без кондиционирования: 83% (95% ДИ, 48-96) и 71% (95% ДИ, 41-88) соответственно; при неспецифической терапии, а также при использовании ростовых факторов и трансфузий донорских лимфоцитов: 39% (95% ДИ, 23-55), 37% (95% ДИ, 18-57) и 30% (95% ДИ, 5-61) соответственно; при применении агонистов рТПО она была сравнительно невысокой: 20% (95% ДИ, 1-58),  $p=0,03$  (рисунок 14б).

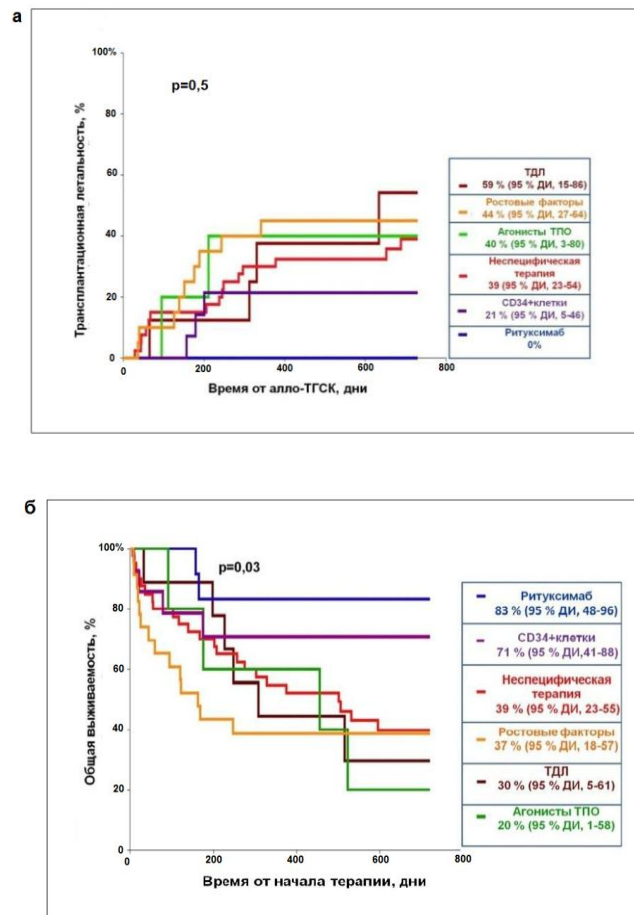


Рисунок 14 – Трансплантационная летальность после алло-ТГСК (а) и общая выживаемость от начала терапии (б) в зависимости от метода терапии тГФТ.

Противоречивые данные о применении агонистов рТПО в данной группе (высокая эффективность в отношении разрешения тГФТ, но низкая выживаемость), вероятно, связаны с относительно высокой долей прогрессии основного заболевания, не связанных с тГФТ: 2 из 5 случаев (40%).

Проведение комбинированной терапии дало тенденцию к увеличению частоты разрешения тГФТ, более низкой трансплантационной летальности и улучшению общей выживаемости по сравнению с любой тактикой в монорежиме или неспецифической терапией: 57% (95% ДИ, 36-74) против 45% (95% ДИ, 33-56),  $p=0,248$ , 28% (95% ДИ, 13-45) против 38 (95% ДИ, 27-50),  $p=0,261$  и 58% (95% ДИ, 38-74) против 42 (95% ДИ, 30-53),  $p=0,112$  соответственно.

При анализе не было выявлено влияния ни времени начала терапии, ни ее длительности на разрешение тГФТ, вероятно в связи с разнородностью клинического течения тГФТ. Однако была документирована зависимость общей выживаемости от скорости ответа на любую проводимую терапию. Так персистенция тГФТ дольше 3 недель достоверно ухудшало общую однолетнюю выживаемость: 52% (95% ДИ, 40-63) против 82% (95% ДИ, 59-93),  $p=0,01$  (рисунок 15).

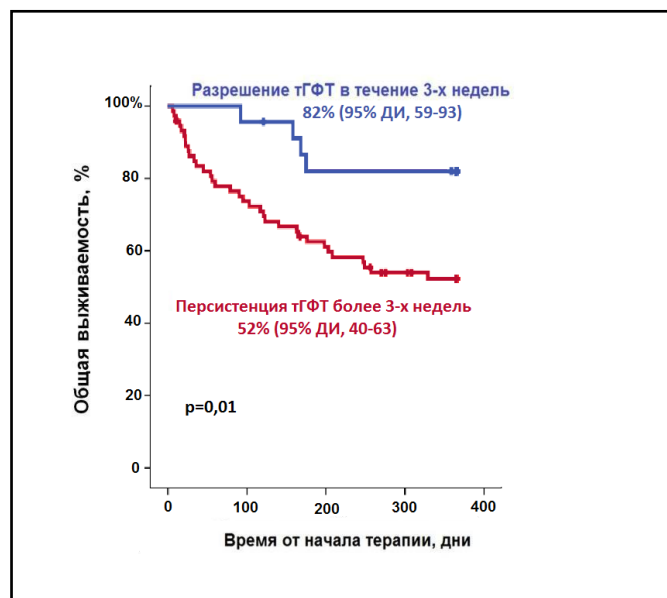


Рисунок 15 – Влияние персистенции тГФТ на общую выживаемость.

При анализе применения разных терапевтических тактик на фоне сопутствующих тГФТ состояний лучшая эффективность наблюдалась при использовании на фоне инфекции агонистов рТПО или повторных трансфузий ГСК без режима кондиционирования: 100% против 64% (26-87) при комбинации

методов, 44% (7-78) при использовании ростовых факторов, 12% (2-32) при поддерживающей терапии,  $p=0,002$  (рисунок 16).

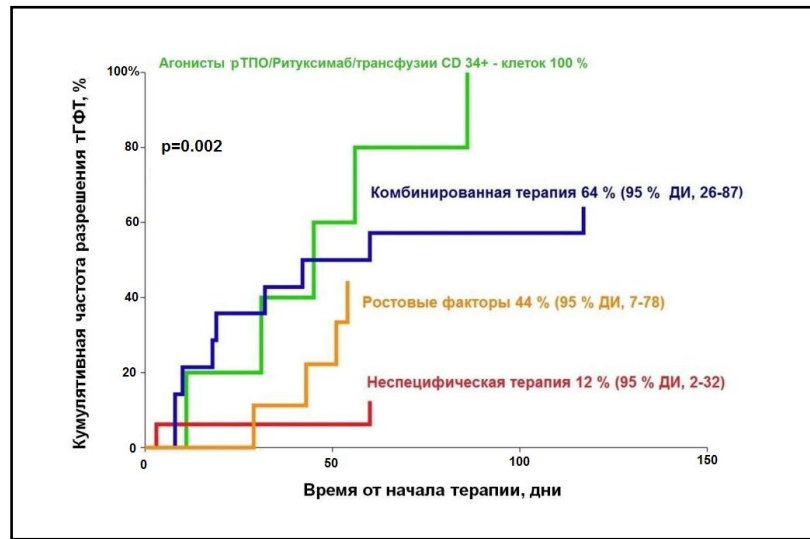


Рисунок 16 – Эффективность разных терапевтических опций на фоне инфекционных осложнений.

Таким образом, из пациентов, получавших специфическую терапию тГФТ, разрешение тГФТ произошло в 35 случаях (56%). В 28 случаях восстановления гемопоэза не произошло. Всего умерли 33 пациента, из них 11 случаев – в связи с рецидивом основного заболевания (17%), а в 22 случаях причиной смерти стала тяжелая инфекция (35%). На момент проведения анализа были живы 30 больных.

Анализ принятой терапевтической тактики показал что, ни один метод не был эффективным в полной мере, что в большой степени можно объяснить неоднородностью причин тГФТ с одной стороны, относительно большим количеством рецидивов основного заболевания с другой стороны.

В данных условиях актуален поиск метода эффективного вне зависимости от причины тГФТ.

## 5.2. Анализ эффективности применения агонистов рецепторов тромбопоэтина

Агонисты рецептора тромбопоэтина показали многообещающие результаты в клинических исследованиях в когорте пациентов с приобретенной апластической анемией. Это явилось основой для проведения проспективного исследования их эффективности для лечения цитопении и критерияльной тГФТпосттрансплантационном периоде.

В данную группу вошли 31 взрослых пациентов (9 из ретроспективного анализа, и 22 из проспективной когорты) с медианой возраста 22 (18-56) года, получившие терапию агонистами рТПО по поводу цитопении в посттрансплантационном периоде.

Критерии включения несколько отличались от критериев определения тГФТ, а именно в группу вошли пациенты: 1) с наличием тромбоцитопении  $<20 \times 10^9/\text{л}$  без или в сочетании с критерияльной цитопенией в других линиях; 2) полный или стабильный смешанный донорский химеризм  $\geq 90\%$ ; 3) отсутствие рецидива заболевания, отторжения трансплантата. Наличие тяжелой РТПХ не являлось критерием исключения в данном исследовании. Распределение по полу было примерно равным: 15 мужчин, 16 женщин. Преобладали пациенты с диагнозом ОМЛ (n=10, 32%) и ОЛЛ (n=7, 23%), ТАА имела место у 5 пациентов (16%), 1 пациент имел диагноз НХЛ (3%), остальные 8 случаев относились к миелопролиферативным заболеваниям: МДС/МПН (n=4, 13%), МДС (n=3, 10%), ХМЛ (n=1, 3%). ТГСК от родственного HLA-совместимого донора имела место в 6 случаях (19%), от неродственного HLA-совместимого донора в 16 случаях (52%), в 9 случаях (29%) был использован гаплоидентичный донор. Больше половины ТГСК были проведены с РИК (n=19, 61%), МАК применялся в 12 случаях (39%). Преобладали режимы профилактики РТПХ на основе посттрансплантационного циклофосфида (птЦ): птЦФ в сочетании с ЦсА или такролимусом (n=12, 38%), птЦФ в сочетании с другими препаратами (n=7,

23%). АТГ-содержащие режимы профилактики имели место в 8 случаях (26%). Другие режимы иммуносупрессивной терапии применялись в 4 случаях (13%).

Показаниями к назначению терапии агонистами рТПО в данной группе явилась критерияльная трехлинейная тГФТ (n=13, 42%), билинейная тГФТ (n=11, 35%) и изолированная тромбоцитопения (n=7, 23%).

Алло-ТГСК с большой несовместимостью по АВ0 имели место в 7 случаях (23%). Большинство пациентов (n=25, 80%) перенесли вирусную реактивацию (преимущественно, цитомегаловирусную) и получали ганцикловир или валганцикловир в дозе 5-10 мг/кг/сутки или 450-900 мг/сутки соответственно. Всего 19 пациентов (61%) имели признаки острого инфекционного процесса на момент начала терапии агонистами рТПО.

Особенностью данной группы явилось то, что в нее вошла значительная доля случаев цитопении, развившейся на фоне острой РТПХ III-IV степени (n=13, 42%). Таким образом, в данной группе имели место различные сочетания потенциальных причин посттрансплантационной цитопении.

Для лечения были использованы: ромиплостим (Nplate®, Amgen) с медианой дозы 5 мкг/кг/неделю (3-5) и элтромбопаг (Revolade®, Novartis) с медианой дозы 50 мг/сутки (50-150). Препараты агонистов рТПО применялись как в монорежиме, так и в дополнение к другим подходам, принятым в центре на момент начала исследования, в зависимости от особенностей конкретной клинической ситуации (таблица 10).

Медиана времени от алло-ТГСК до ГФТ составила 44 (18-664) дня, при этом преобладала персистирующая тГФТ (n=20, 65%), вновь возникшая тГФТ развивалась у 11 пациентов (35%). В структуре ГФТ имела место посттрансплантационная тромбоцитопения в 7 случаях, и критерияльная тГФТ в 24 случаях.

Медиана длительности ГФТ была 59 (5-426) дней. Медиана времени от диагноза ГФТ до начала терапии агонистов рТПО и медиана продолжительности терапии составили 15 (0-119) дней и 3 (1-48) недели соответственно. Медиана



дозы для ромиплостима составила 5 (3-8) мг/кг, для элтромбопага она была 50 (50-150) мг/сутки. Медиана кумулятивной дозы ромиплостима и элтромбопага были 15 (5-70) мг и 3175 (750-50400) мг соответственно.

Таблица 10 – Варианты терапевтических комбинаций агонистов рецептора тромбопоэтина

Вариант	n
<b>Агонист рТПО</b>	
Ромиплостим 3-8 мг/кг	17
Элтромбопаг 50-150 мг/день	14
<b>Терапевтические комбинации</b>	
Ромиплостим в монорежиме	14
Элтромбопаг в монорежиме	8
Агонист рТПО и ритуксимаб	5
Агонист рТПО и трансфузия донорских лимфоцитов	3
Агонист рТПО и трансфузия CD34+ клеток без режима кондиционирования	1

Переносимость агонистов рТПО была относительно удовлетворительной. Ни одного эпизода токсичности 3-4 степени не было документировано, имел место один случай гепатотоксичности 1 степени на фоне приема элтромбопага, не потребовавший отмены препарата.

Агонисты рТПО использовались в комбинации с другими методами терапии в 9 случаях (29%): с ритуксимабом в 5 случаях, ритуксимабом и ТДЛ в 3 случаях и с трансфузией CD34+ клеток от того же донора без режима кондиционирования в одном случае.

Всего 16 (52%) пациентов соответствовали критериям ответа. Полный ответ наблюдался в 4 случаях (13%), в то время как частичный ответ имел место у 12 больных (39%). Медиана роста АЧН и тромбоцитов во всей группе составила  $1,2 (0,1-5,6) \times 10^9/\text{л}$  ( $0,1-5,6$ ) и  $19 (2-205) \times 10^9/\text{л}$  соответственно, при этом медиана роста АЧН и тромбоцитов у ответивших на терапию пациентов была выше и составила  $2,0 (0,1-6,0) \times 10^9/\text{л}$ , тромбоцитов –  $34 (14-205) \times 10^9/\text{л}$ .

Медиана кумулятивной дозы ромиплостима и элтромбопага у ответивших пациентов составила 30 мг/кг (3,5-73) и 2100 мг (750-50400) соответственно. Медиана времени ответа для ромиплостима составила 63 дня (5-181), для элтромбопага 38 дня (8-426).

Кумулятивная частота разрешения ГФТ на фоне терапии агонистами рТПО составила 72% (95% ДИ, 43-88), при этом общий ответ на монотерапию агонистами рТПО и комбинацию их с другими методами отличался незначительно: 75% (95% ДИ, 34-92) против 67% (95% ДИ, 12-93),  $p=0,376$  (рисунок 17).

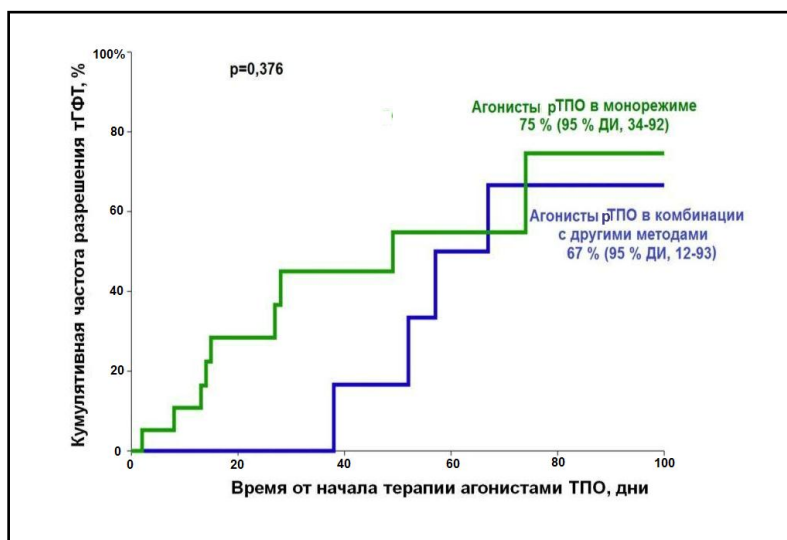


Рисунок 17– Кумулятивная частота ответа на терапию агонистами рТПО.

Также кумулятивная частота разрешения ГФТ не зависела от применяемого препарата. В данном анализе ни инфекционные эпизоды (в том числе и вирусные инфекции), ни оРТПХ 3-4 степени не влияли на частоту ответа на терапию агонистами рТПО.

Трансплантационная летальность, не связанная с рецидивом, в течение 1 года в данной группе составила 36% (17-53), при этом она была существенно выше в группе, не ответивших на терапию: 63% (95% ДИ, 26-81) против 14% (95% ДИ, 0-31),  $p=0,003$  (рисунок 18).

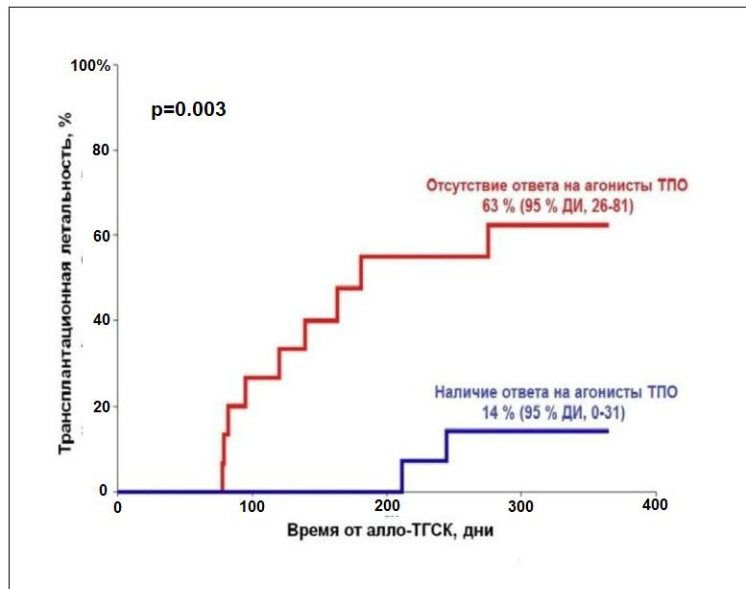


Рисунок 18 – Трансплантационная летальность зависимости от ответа на терапию агонистами рТПО.

Общая выживаемость через 1 год от начала терапии агонистами рТПО составила 56% (95% ДИ, 36-72). Она значимо различалась у ответивших и не ответивших на терапию пациентов: 78% (95% ДИ, 47-93) против 33% (95% ДИ, 12-56) ( $p=0,004$ ) (рисунок 19).

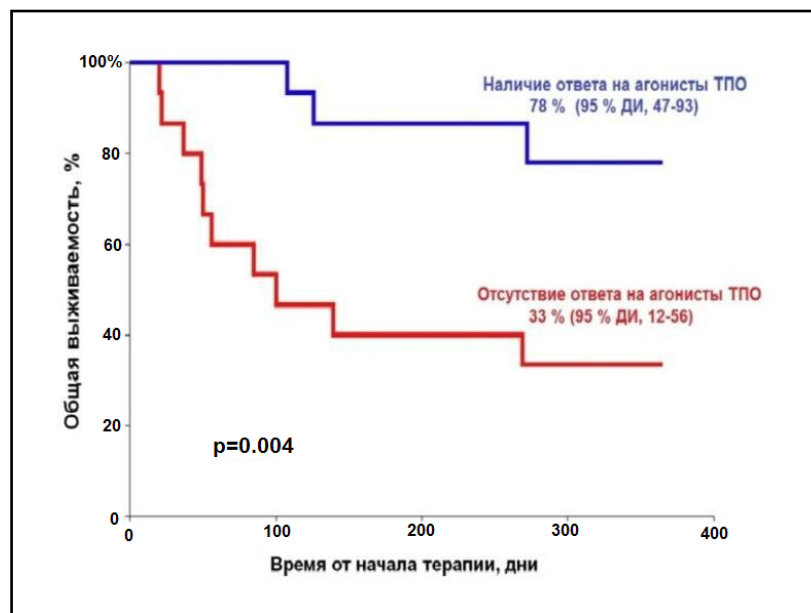


Рисунок 19 – Общая выживаемость в зависимости от ответа на терапию агонистами рТПО.

Среди ответивших на терапию рТПО (n=16) живы 11 человек. Всего 18 пациентов из исследуемой группы умерли. Причиной смерти инфекционные осложнения были в 11 случаях, рецидив был причиной смерти в 4 случаях, и ОРТПХ III-IV степени в 3 случаях.

Таким образом, данное исследование показало, что агонисты рТПО являются эффективной терапией ГФТ, в том числе у пациентов с тГФТ на фоне тяжелой РТПХ и инфекционных осложнений.

## ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

За последние 20 лет алло-ТГСК претерпела существенные преобразования: динамически меняли предпочтения интенсивности режимов кондиционирования, были предложены новые способы профилактики РТПХ, улучшилась сопроводительная терапия, расширился круг показаний [3, 5, 6, 20, 21]. Несмотря на успехи трансплантационных технологий и уменьшение рисков неприживления трансплантата, на сегодняшний момент недостаточное функционирование трансплантата остается актуальной медицинской проблемой.

Тяжелая ГФТ является одним из относительно редких, но потенциально летальных осложнений после алло-ТГСК. Эффективная ее профилактика и лечение имеют большую практическую и научную ценность. Однако на момент планирования данного исследования в литературе существовало ограниченное число работ, посвященных ГФТ, отсутствовало четкое определение данного осложнения [165].

С учетом того, что этиологические факторы для данного состояния могут быть как первичными, так и вторичными, в нашей работе эти состояния объединяются под общим термином гипофункция трансплантата («poor graft function» в англоязычной литературе). Гипофункция трансплантата обычно описывается как развитие неадекватного донорского гемопоэза после инициального приживления [86]. Только в последнее время стало складываться более четкое определение тяжелой гипофункции трансплантата [165, 216]. Разные авторы сообщают о 3-27% частоте плохой функции трансплантата, что включает в себя как первичное неприживление, так и разные формы дисфункции трансплантата [122, 136, 166].

Целью данного исследования стало изучить особенности клинических проявлений гипофункции трансплантата, в том числе дать четкие критерии диагностики тяжелой гипофункции трансплантата, проанализировать кумуля-

тивную частоту, а также определить факторы риска и проследить исходы данного осложнения.

В представленной работе были сформулированы строгие объединенные критерии тяжелой гипофункции трансплантата, включающие оценку показателей периферической крови и донорского химеризма, статус основного заболевания, а также наличие тяжелой реакции «трансплантат-против-хозяина» в качестве самостоятельного фактора, влияющего на прогноз после алло-ТГСК.

Вследствие невысокой частоты исследуемого осложнения алло-ТГСК большинство предшествующих работ носило ретроспективный характер, что имеет ряд ограничений (отсутствие единых критериев диагностики, длительного наблюдения, терапевтической тактики). В данном исследовании, включавшем как ретроспективную, так и проспективную фазу, было проанализировано 710 первых аллогенных ТГСК с документированным приживлением по нейтрофильному росту. Для определения тГФТ были выбраны строгие критерии оценки цитопении при сохранении полного или стабильного смешанного донорского химеризма, отсутствии рецидива основного заболевания и тяжелой острой РТПХ [122]. В результате данной работы была выделена группа пациентов с тГФТ (n=103), которая явилась одной из наиболее крупных когорт с наиболее строгими критериями среди исследований в данной области [19]. Также особенностью сформированной когорты является то, что в нее вошли пациенты с разными нозологиями, что отражает реальную клиническую практику.

До настоящего времени ГФТ оставалась слабо охарактеризованной с клинической точки зрения проблемой, несмотря на существование ряда работ, касающихся патогенеза и лечения плохой функции трансплантата. В этой связи главной целью данного анализа была максимально подробная клиническая характеристика тГФТ, ее частоты и исходов.

В анализируемой нами когорте была документирована кумулятивная частота тГФТ за два года равная 15%, что укладывается в диапазон данных, представленных в литературе [122, 131, 165]. При этом было показано, что мак-

симум событий приходится на ранние сроки после алло-ТГСК. Эти данные также имеют подтверждение в литературе, однако впервые была приведена характеристика тГФТ по количеству вовлеченных линий гемопоэза и их сочетаниям [186].

В данном исследовании на большой когорте впервые было проанализировано влияние тГФТ на независимую от рецидива трансплантационную летальность и общую выживаемость. В отличие от предшествующих работ, в которых обсуждалось совместно первичное неприживление и другие виды дисфункции трансплантата, в данной работе впервые было показано отдельно для тГФТ влияние на основные параметры эффективности алло-ТГСК. Документировано, что тГФТ значительно увеличивает трансплантационную летальность и ухудшает общую выживаемость. Учитывая гетерогенность анализируемых случаев, а также немногочисленность отдельных нозологических групп, статистически значимым влияние тГФТ на общую выживаемость и трансплантационную летальность было в наибольшей по численности подгруппе пациентов с острыми лейкозами.

Отдельной задачей данного анализа было изучение исходов тГФТ, в связи с тем, что существуют лишь единичные исследования отдаленных результатов лечения недостаточности трансплантата [186]. В отличие от работы Rondón et al., в которой были проанализированы как случаи первичного неприживления, так и гипофункции трансплантата, в настоящее исследование вошли только пациенты четкими критериями тГФТ. Также впервые представлены данные об исходах двух- и трехлинейной тГФТ.

Принятые в исследовании критерии включения предполагали документированное приживление трансплантата ГСК. В связи с этим результаты анализа частоты рецидивов при разных вариантах тГФТ должна быть интерпретирована с осторожностью. В частности, отсутствие рецидивов при персистирующей тГФТ очевидно связано с селекцией пациентов на этапе включения в исследование.

Представленное исследование показало высокую частоту неблагоприятных событий в группе тГФТ (n=52, 51%). Несмотря на то, что это составило всего 7% от общего числа пациентов с приживлением трансплантата после алло-ТГСК, данная группа требует дополнительной терапии, удлинения госпитализации и характеризуется плохим прогнозом в отношении выживаемости, что в совокупности значительно ухудшает результаты алло-ТГСК.

Результаты исследования подтвердили значение диагноза для развития тГФТ [136, 165]. Относительно низкая кумулятивная частота тГФТ (13%) имела место у пациентов с ТАА, острыми лейкозами, ХМЛ и лимфомами. Наибольшая кумулятивная частота тГФТ (до 34%) была документирована у пациентов с МДС, ПМФ, МДС/МПН, что несколько больше по сравнению с данными представленными Alchalby et al. (17%) [29]. Связь между недостаточным функционированием трансплантата и миелопролиферативными заболеваниями довольно широко признана [29, 119, 128]. Патогенетически она, скорее всего, зависит от целого ряда факторов. Одной из причин могут быть дефекты стромы костного мозга (снижение количества эндоостальных, периваскулярных клеток и эндотелиальных клеток-предшественников) при данных заболеваниях. Свой вклад в патогенез ГФТ может вносить разрушение стволовых клеток трансплантата в селезенке. Кроме того, пациенты с данными диагнозами редко получают интенсивную химиотерапию в период предшествующий ТГСК, что приводит к большей иммунокомпетентности реципиента на момент ТГСК [28, 37]. Данная группа пациентов также имеет повышенный риск аллоиммунизации после повторных переливаний. Несмотря на то, что четкая корреляция между наличием донор-специфичных анти-HLA-антител более характерна для первичного неприживления трансплантата, их наличие также же может играть роль и в развитии ГФТ [50,63].

Статус заболевания также показал высокую значимость для развития тГФТ в однофакторном анализе, однако в многофакторном анализе его роль была утрачена. Тем не менее, обращает на себя внимание относительно высокая доля



следующих за гипофункцией рецидивов основного заболевания (n=18, 18% от всех тГФТ). Таким образом, в случае острых лейкозов развитие тГФТ может говорить о недостаточном контроле основного заболевания после алло-ТГСК, что ранее не постулировалось в литературе.

Известно, что, являясь отражением многих процессов, влияющих на исход алло-ТГСК (характер и активность заболевания, множественные трансфузии, инфекции), повышенный уровень ферритина перед трансплантацией представляется независимым фактором риска для смерти без рецидива и общей выживаемости у пациентов после алло-ТГСК [35, 197]. В случае тяжелой перегрузки железом токсическое действие оказывается на различные типы клеток и тканей. Повышенное накопление железа в костном мозге приводит к повышению уровня активных форм кислорода, что повреждает ГСК. Кроме цитотоксических влияний на ГСК перегрузка железа отражается на функции стромальных клеток костного мозга, что приводит к изменению цитокинового профиля, вероятно в пользу провоспалительных цитокинов, которые обладают миелосупрессивным эффектом [106].

В данном исследовании уровень ферритина был проанализирован в проспективной части исследования и продемонстрировал значимость в отношении развития тГФТ, однако этот показатель не был включен в многофакторный анализ в связи с тем, что данные охватывали менее половины исследуемой группы.

HLA-совместимость является одним из условий успешной трансплантации, однако в последнее время растет количество алло-ТГСК от гаплоидентичных доноров. ГФТ при гаплоидентичной ТГСК остается малоизученной проблемой [63, 64]. В нашем анализе тип донора был статистически значимым для тГФТ в случае гаплоидентичных ТГСК. Однако при этом существенное увеличение частоты тГФТ среди гаплоидентичных ТГСК может быть вторичным и связано с преимущественным использованием гаплоидентичных доноров у пациентов из группы «спасения», то есть с актив-

ным статусом основного заболевания (7 из 12 случаев, 58%). В ретроспективном периоде исследования гаплоидентичная ТГСК преимущественно использовалась у пациентов с плохим прогнозом, в связи с этим данные о повышенной частоте тГФТ при гаплоидентичной ТГСК следует рассматривать с осторожностью в отношении когорты пациентов стандартного риска. Влияние донор-специфичных анти-HLA-антител также может служить причиной замедленного приживления и развития тГФТ при гаплоидентичных ТГСК, что было показано в последних исследованиях [58, 63].

В ходе данной работы не было показано связи тГФТ с режимом кондиционирования, что находит подтверждение в литературе [223]. Вероятно, режим кондиционирования имеет большее значение на этапе приживления трансплантата ГСК [166].

Использование комбинации праймированного КМ с СКПК для гаплоидентичных ТГСК с удовлетворительными результатами в отношении приживления трансплантата документировано в отдельных исследованиях, при этом частота тГФТ у данной категории пациентов не оценивалась [127]. В данной работе впервые было показана связь использования сочетания КМ и СКПК с большей кумулятивной частотой тГФТ по сравнению с другими источниками трансплантата. Это может быть отражением тех клинических ситуаций, когда такое сочетание использовалось вследствие забора недостаточного количества CD34<sup>+</sup> из костного мозга. Также в данную группу вошли отдельные случаи гаплоидентичных ТГСК, что является дополнительной возможной конкурирующей причиной тГФТ.

Связь вирусных инфекций с посттрансплантационными цитопениями отображена в литературе достаточно широко. Герпес-вирусы лидируют среди вирусных инфекций в посттрансплантационном периоде. В настоящем исследовании реактивация герпесвирусов была зарегистрирована у 59 % пациентов, что несколько выше данных, приводимых в литературе (до 50 % среди всех пациентов послучивших ТГСК). Новым в данном исследовании стало то,

что развитие более одного эпизода реактивации вирусной инфекции явилось независимым фактором риска тГФТ в посттрансплантационном периоде [15, 22, 77, 167].

Учитывая тот факт, что осложнения, связанные с тГФТ, являются одной из причин безрецидивной смертности пациентов в посттрансплантационном периоде, а также отсутствие устоявшихся рекомендаций по ведению данных пациентов, одной из значимых целей исследования был анализ терапии тГФТ. В литературе относительно широко обсуждается эффективность отдельных методов терапии тГФТ (инфузии селектированных CD34+, агонисты рТПО, повторные ТГСК). Однако в настоящее время ни одному методу не отводится преимущественное значение, а также четкие данные об эффективности терапии имеются только для трансфузий селектированных CD34+ клеток [119, 131, 206]. Другие методы включают в себя профилактику неприживления трансплантата и ограничиваются несистематизированными данными отдельных наблюдений об эффективности ростовых факторов, агонистов рТПО [48, 73, 116, 126, 208, 213].

В данном исследовании впервые были комплексно проанализированы различные терапевтические тактики в составе как комплексной, так и монотерапии. В анализ также вошла группа, не получавшая специфической терапии. При этом не было показано статистически значимой разницы в частоте разрешения тГФТ между группами с использованием различных тактик в монорежиме и их комбинаций. Однако получена тенденция к улучшению общей выживаемости у пациентов, получавших комбинированную терапию.

Впервые было показано значение скорости ответа на проводимую терапию, при отсутствии ответа через 3 недели общая выживаемость ухудшалась более чем в 1,5 раза. Также впервые было документировано достоверное преимущество применения агонистов рТПО, ритуксимаба или повторных инфузий ГСК без режима кондиционирования для лечения тГФТ на фоне инфекционных осложнений.

В условиях гетерогенности и затрудненной дифференциальной диагностики причин тГФТ выбор терапии остается сложной клинической задачей и требует комплексного подхода. Агонисты рТПО, в частности, элтромбопаг, показали эффективность при лечении идиопатической тромбоцитопении, приобретенной апластической анемии, МДС [75, 154, 230].

Тот факт, что элтромбопаг воздействует на ранние предшественники гемопоэза, а также механизм действия элтромбопага в обход ТПО-связывающего домена, и сохранение эффективности в условиях гетеродимеризации ТПО за счет ИФН- $\gamma$ , позволяет рассматривать элтромбопаг как потенциальный метод стимуляции восстановления гемопоэза в условиях хронического воспаления, например, при РТПХ или инфекционных процессах [32]. В настоящем исследовании была показана эффективность агонистов рТПО в условиях тяжелой ГФТ, что подтверждается новейшими данными литературы. В нем впервые была показана эффективность агонистов рТПО на когорте пациентов, значимую долю которой составляли пациенты с тяжелой РТПХ.

Таким образом, анализ результатов настоящего исследования в сравнении с современными литературными данными позволил ответить на ряд острых вопросов. В частности, уточнены факторы риска и частота тГФТ в условиях современных трансплантационных технологий. Впервые были прослежены исходы тГФТ, проанализирована эффективность терапии данного осложнения в реальной клинической практике.

В дополнение к новейшим данным получены доказательства клинической эффективности агонистов рТПО при тГФТ [142].

Учитывая многофакторность поднятой проблемы, значимость ее для прогноза, в реальной клинической практике эффективное и оперативное проведение дифференцированного диагноза любой посттрансплантационной цитопении может улучшить результаты алло-ТГСК. Стратификация начинается с определения группы риска данного состояния и определения тактики вмешательства, включая диагностические мероприятия. Инициальные мероприятия

включают в себя: 1) морфологическую оценку состояния гемопоэза в аспирате костного мозга; 2) определение донорского химеризма; 3) исключение рецидива основного заболевания; 4) определения наличия вирусной реактивации в периферической крови и костном мозге; 5) пересмотр сопутствующей терапии в отношении миелотоксичных препаратов; 6) определение витаминдефицитных состояний; 7) оценка наличия признаков аутоиммунного процесса; 8) оценка ответа на терапию ростовыми факторами; 9) раннее планирование добавления агонистов рТПО и/или применение трансфузий ГСК без/с повторным кондиционированием.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гипофункция трансплантата ГСК является относительно редким, но значимым осложнением после алло-ТГСК. Четкое определение и отграничение гипофункции трансплантата от других вариантов недостаточности ГСК стало постулироваться в литературе лишь в последнее время.

В настоящем исследовании, включавшем ретроспективную и проспективную фазы, в крупной когорте взрослых пациентов с документированным приживлением трансплантата после алло-ТГСК были предложены строгие критерии диагностики тГФТ. Основываясь на этих критериях, была прецизионно оценена частота тГФТ. Полученные данные соответствуют диапазону, представленному в современной литературе.

В диссертационной работе впервые была описана структура тГФТ согласно времени развития данного осложнения и количества вовлеченных ростков гемопоэза. Также впервые проанализированы исходы и отдаленный прогноз критериальной тГФТ как в целом в когорте, так и в зависимости от особенностей клинической манифестации. В ходе детального анализа предтрансплантационных факторов и пост-трансплантационных состояний выявлена высокая значимость диагноза и типа донора для прогноза тГФТ, а также показан вклад инфекционных осложнений в развитие тГФТ.

Впервые произведена оценка связи критериальной тГФТ с основными параметрами эффективности алло-ТГСК. Несмотря на ограничения, связанные со структурой исследуемой когорты, документировано отрицательное влияние тГФТ на общую выживаемость и статистически значимое повышение трансплантационной летальности после алло-ТГСК в группе с тГФТ.

В ходе тщательного ретроспективного анализа вариантов терапевтической тактики в реальной клинической практике выявлена зависимость общей выживаемости от скорости ответа на проводимую терапию тГФТ.

В ретроспективном и проспективном анализе оценена эффективность агонистов рТПО для лечения тГФТ. Впервые подобный анализ проводился в группе со значимой долей случаев тяжелой оРТПХ, при этом ответ на терапию агонистами рТПО был ассоциирован с лучшей общей выживаемостью.

Проведенное исследование выявило ряд клинических проблем, которые могут стать целью будущих проспективных исследований, включающих как лабораторные, так и клинические методы. Дальнейшее изучение патогенеза тГФТ и биологических основ эффективности различных вариантов терапии тГФТ, а также определение их этапности и структуры являются перспективными направлениями дальнейших исследований с целью повышения эффективности алло-ТГСК.

## ВЫВОДЫ

1. В крупном когортном исследовании взрослых пациентов кумулятивная частота развития критериальной тГФТ составила 14 % (ДИ 95 %, 12-17) в течение 12 месяцев после алло-ТГСК.
2. Манифестация тГФТ включает персистирующую с момента приживления трансплантата (21 %) и вновь возникшую (79 %) цитопению с вовлечением двух (59 %) или трех (41 %) ростков кроветворения, которые имеют разный прогноз. Вероятность разрешения тГФТ выше при двухростковой цитопении (64 % против 29 %,  $p < 0.001$ ).
3. Развитие тГФТ ассоциировано с повышением трансплантационной летальности: 29 % (ДИ 95 %, 21-38) против 18 % (ДИ 95 %, 15-21) в группе пациентов без признаков тГФТ ( $p = 0.007$ ).
4. В качестве предтрансплантационных факторов риска развития тГФТ идентифицированы первичный диагноз миелопролиферативного заболевания (ОР 2.98, ДИ 95 %, 1.64-5.22,  $p = 0.0001$ ) и использование гаплоидентичного донора ГСК (ОР 3.09, ДИ 95 %, 1.23-6.92,  $p = 0.0006$ ). Риск развития тГФТ повышается у больных с сепсисом (ОР 1.64, ДИ 95 %, 1.06-2.51,  $p = 0.026$ ) и вирусной реактивацией (ОР 3.37, ДИ 95 %, 1.66-8.09,  $p = 0.002$ ).
5. Ретроспективный анализ использования сопроводительной терапии, ростовых факторов, иммуносупрессивной терапии, трансфузий донорских лимфоцитов и CD34+ клеток в разных комбинациях и последовательности не выявил оптимальной терапевтической тактики при тГФТ. Отсутствие разрешения тГФТ в течение 3 недель на фоне терапии сопряжено со снижением общей выживаемости (39 %, ДИ 95 %, 28-51 против 67 %, ДИ 95 %, 42-83).
6. Агонисты рТПО являются эффективным методом терапии тГФТ с частотой общего ответа 52 % (ДИ 95 %, 35-68). Ответ на терапию агонистами рТПО ассоциирован с повышением общей выживаемости пациентов с тГФТ до 78 % (ДИ 95 %, 47-93) против 33 % (ДИ 95 %, 12-56) в группе пациентов с отсутствием ответа ( $p = 0.004$ ).



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для постановки диагноза гипофункции трансплантата необходимо исключить рецидив злокачественного заболевания, оценить степень донорского химеризма для исключения отторжения трансплантата, а также клеточность и морфологический состав пунктата костного мозга. При сохранении полного или стабильного высокого смешанного донорского химеризма и ремиссии основного заболевания следует провести скрининг на дефицитные состояния (витамин В12, фолаты), возможные иммунные осложнения (антитела к тромбоцитам и эритроцитам, уровень лактатдегидрогеназы), вирусные инфекции (ВПГ 1,3 и 6 типа, ЦМВ, парвовирус В19, ЭБВ), осуществить пересмотр текущей терапии с целью выявления и возможной отмены или коррекции дозы миелотоксичных лекарственных средств.
2. При планировании алло-ТГСК и после ее проведения необходимо оценивать риск развития тГФТ на основании установленных факторов риска с целью оптимизации сроков и выбора терапии данного осложнения.
3. В терапии первой линии помимо базовых терапевтических мероприятий, включающих восполнение дефицита витаминов, отмену миелотоксичных лекарств, лечение инфекционных эпизодов, контроль РТПХ, могут применяться ростовые факторы и агонисты рТПО. Назначение агонистов рТПО может рассматриваться у всех больных с признаками тГФТ и цитопенией на фоне РТПХ как универсальная опция вне зависимости от патогенетических механизмов и факторов риска. Применение ритуксимаба в первой линии обосновано при наличии признаков иммунного этиологии гипофункции трансплантата.
4. При неэффективности данных методов следует рассматривать комбинацию терапевтических опций или повторную трансфузию ГСК в качестве второй линии. Также более интенсивную тактику следует применять при наличии у пациента сопутствующих инфекционных осложнений.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АИГА	– аутоиммунная гемолитическая анемия
АИПТЦ	– аутоиммунная посттрансплантационная цитопения
Алло-ТГСК	– аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
АТГ	– антитимоцитарный глобулин
БК	– бластный криз
ВОб	– веноокклюзионная болезнь
ВПГ	– вирус простого герпеса
ГСК	– гемопоэтические стволовые клетки
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИЛ	– интерлейкин
ИТП	– иммунная тромбоцитопения
ИФН	– интерферон
КМ	– костный мозг
ЛПЗ	– лимфопролиферативные заболевания
ЛХ	– лимфома Ходжкина
МАК	– миелоаблативный режим кондиционирования
МДС	– миелодиспластический синдром
МДС/МПЗ	– миелодиспластическое/миелолипролиферативное заболевание
МПЗ	– миелолипролиферативное заболевание
МСК	– мезенхимные стромальные клетки
НМА	– частичная ремиссия
НХЛ	– неходжкинские лимфомы
Об	– общая выживаемость
ОЛЛ	– острый лимфобластный лейкоз
ОМЛ	– острый миелобластный лейкоз

ОМЛ	– острый миелобластный лейкоз
ОР	– отношение рисков
ОРТПХ	– острая «реакция-трансплантат-против-хозяина»
ПВВ19	– парвовирус В19
ПКГР	– первая клинико-гематологическая ремиссия
ПККА	– парциальная красноклеточная аплазия
ПМФ	– первичный миелофиброз
птЦФ	– посттрансплантационный циклофосфан
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РИК	– режим кондиционирования со сниженной интенсивностью доз
рТПО	– рецептор тромбopoэтина
РТПХ	– реакция «трансплантат-против-опухоли»
РФ	– ростовые факторы
СКПК	– стволовые клетки периферической крови
ССО	– синдром синусоидальной обструкции
ТАА	– тяжелая апластическая анемия
ТА-ТМА	– тромботическая микроангиопатия, ассоциированная с трансплантацией
тГФТ	– тяжелая гипофункция трансплантата
ТДЛ	– трансфузии донорских лимфоцитов
ТЛ	– трансплантационная летальность
ТМА	– тромботическая микроангиопатия
ТПО	– тромбopoэтин
Т-рег	– регуляторные Т-лимфоциты
ФНО	– фактор некроза опухолей
ХЛЛ	– хронический лимфолейкоз
ХМЛ	– хронический миелолейкоз
ХММЛ	– хронический миеломонолейкоз

хрРТПХ	– хроническая «реакция-трансплантат-против-хозяина»
ХФ	– хроническая фаза
ЦМВ	– цитомегаловирус
CIBMTR	– Center for International Blood and Marrow Transplant Research
	– Центр международных исследований трансплантации крови и костного мозга
Crispld1	– cysteine-rich secretory protein lcl domain-containing 1
	– богатый цистеином секреторный белок, содержащий домен
lcl 1	
CXCL12	– chemokine (C-X-C motif) ligand 12
	– фактор стромальных клеток
EBMT	– European Group of Blood and Marrow Transplantation
	– Европейская группа по трансплантации крови и костного мозга
HLA	– Human Leukocyte Antigen
	– человеческий лейкоцитарный антиген
ICAM	– inter-cellular adhesion molecule 1
	– молекула межклеточной адгезии 1
IGF	– insulin-like growth factor
	– инсулиноподобный фактор
JAK	– Janus kinase
	– Янус киназа
KIR	– killer-cell immunoglobulin-like receptor
	– иммуноглобулин-подобные рецепторы-киллеры
NCCN	– National Comprehensive Cancer Network
	– Национальная комплексная онкологическая сеть США
NK	– natural killer
	– натуральный киллер
PDGF	–platelet-derived growth factor

- фактор роста тромбоцитов
- RECIL – Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
  - критерии оценки ответа солидных опухолей
- SDF1 – stromal cell-derived factor-1
  - фактор стромальных клеток
- STAT – signal transducer and activator of transcription
  - сигнальный белок и активатор транскрипции
- VCAM – vascular cell adhesion molecule 1
  - васкулярная молекула межклеточной адгезии 1
- VEGFR – vascular endothelial growth factor
  - фактор роста фактор роста эндотелия сосудов
- VEGFR2 – vascular endothelial growth factor receptor 2
  - рецептор фактора роста фактор роста эндотелия сосудов 2

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулкадыров, К.М. Клиническая гематология: справочник / К.М. Абдулкадыров и др. – М.: Питер, 2006 (ООО Тип. Правда 1906). – 447 с.
2. Афанасьев, Б.В. Роль стромы кроветворных органов в развитии некоторых гематологических заболеваний / Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская // Терапевт. арх. – 1985. – № 7. – С. 27-33.
3. Афанасьев, Б.В. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при острых лейкозах и лимфомах / Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская // Онкогематология. – 2006. – № 1-2. – С. 70-85
4. Афанасьев, Б.В. Выбор донора при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / Б.В. Афанасьев и др. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2016. – Т.3, №3. – С. 30-36.
5. Барабанщикова, М.В. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при миелофиброзе / М.В. Барабанщикова и др. // Клини. онкогематология. – 2016. – Т. 9, № 3. – С. 279-286.
6. Бондаренко, С.Н. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при остром миелобластном лейкозе в первой ремиссии / С.Н. Бондаренко и др. // Терапевтический архив. – 2013. – № 7. – С. 18-25.
7. Герасимов, Ю.В. Дифференцировочные потенции клональных штаммов костномозговых фибробластов / Ю.В. Герасимов, А.Я. Фриденштейн, Р.К. Чайлахян // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1986. – Т. 101, № 6. – С. 717-719.
8. Денхэм, М. Болезни крови у пожилых / М. Дж. Денхэма, И. Чанарина; пер. с англ. – М.: Медицина, 1989. – 352 с.
9. Зубаровская, Л.С. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при гемобластозах / Л.С. Зубаровская, Л.М. Фрегатова, Б.В. Афанасьев // Клиническая онкогематология / под ред. проф. М.А. Волковой. – М., 2001. – 327 с.

10. Карпищенко, А.И. Медицинская лабораторная диагностика, программы и алгоритмы / А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 2001. – 530 с.
9. Кузьмина, Л. А. Повторная трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных гемобластозами. / Кузьмина Л. А. З. В. Конова Е. Н. Паровичникова, М. Ю. Дроков, В. А. Васильева, Н. Н. Попова, В. Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. – 2019. – № 64(1). – С.35–48. генной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / Б.В. Афанасьев и др. // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2016. – Т.3, №3. – С. 30-36.
10. Барабанщикова, М.В. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при миелофиброзе / М.В. Барабанщикова и др. // Клиническая онкогематология. – 2016. – Т. 9, № 3. – С. 279-286.
11. Бондаренко, С.Н. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при остром миелобластном лейкозе в первой ремиссии / С.Н. Бондаренко и др. // Терапевтический архив. – 2013. – № 7. – С. 18-25.
12. Герасимов, Ю.В. Дифференцировочные потенции клональных штаммов костномозговых фибробластов / Ю.В. Герасимов, А.Я. Фриденштейн, Р.К. Чайлахян // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1986. – Т. 101, № 6. – С. 717-719.
13. Денхэм, М. Болезни крови у пожилых / М. Дж. Денхэма, И. Чанарина; пер. с англ. – М.: Медицина, 1989. – 352 с.
11. Зубаровская, Л.С. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при гемобластозах / Л.С. Зубаровская, Л.М. Фрегатова, Б.В. Афанасьев // Клиническая онкогематология / под ред. проф. М.А. Волковой. – М., 2001. – 327 с.
12. Карпищенко, А.И. Медицинская лабораторная диагностика, программы и алгоритмы / А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 2001. – 530 с.
13. Кузьмина, Л. А. Повторная трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных гемобластозами. / Кузьмина Л. А. З. В. Коно-

- ва Е. Н. Паровичникова, М. Ю. Дроков, В. А. Васильева, Н. Н. Попова, В. Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. – 2019. – № 64(1). – С.35–48.
14. Кулагин, А.Д. Взаимосвязь нарушений гемопоэза и иммунных дефектов у больных злокачественными лимфомами с тяжелой цитостатической предлеченностью / Кулагин А.Д. и др. // Гематология и трансфузиология. – 2001. – Т.46, №6. – С.6-10
  15. Кучер, М.А. АВ0-несовместимость при аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток: анализ 15-летнего опыта НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой / М.А. Кучер и др. // Онкогематология. – 2016. – Т. 11, № 4. – С. 49-55.
  16. Кучер, М.А. Роль групповой АВ0-несовместимости в развитии осложнений при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / М.А. Кучер и др. // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2015. – Т. XXII, № 1. – С. 57-59.
  17. Масчан, А.А. Поражения, вызываемые герпес-вирусами / А.А. Масчан // Клиническая онкогематология / под ред. М.А. Волковой. – М.: Медицина, 2001. – 576 с.
  18. Масчан, М.А. Деpletion альфа/бета-Т-лимфоцитов – надежная платформа для развития трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичных доноров / М.А. Масчан // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – Т.2, №3. – С.34-38.
  17. Овсянникова, М.А. Цитомегаловирусная инфекция при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.29 / Овсянникова М.А. – СПб., 2006. – 142 с.
  18. Пирогова, О.В. Профилактика острой реакции «трансплантат против хозяина» после аллогенной неродственной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: сравнение эффективности программ на основе антитимоцитарного глобулина или циклофосфида / О.В. Пирогова и др. // Клиническая онкогематология. – 2016. – Т. 9, № 4. – С. 391-397.



19. Рудакова, Т.А. Тяжелая гипофункция трансплантата после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у взрослых пациентов: частота, факторы риска, исходы /Т.А. Рудакова и др.// Клиническая онкогематология. – 2019. Т.12 №3. С. 309–318
20. Румянцев, А.Г. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей / А.Г. Румянцев, А.А. Масчан. – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – С. 18-23.
21. Савченко, В.Г. Трансплантации аллогенных и аутологичных гемопоэтических стволовых клеток при острых лейкозах (итоги 20-летнего опыта) / В.Г. Савченко и др. // Терапевт. арх. – 2007. – № 7. – С. 54-61.
22. Савченко, В.Г. Основные свойства мезенхимных стромальных клеток из костного доноров: поверхностные маркеры / В.Г. Савченко, Дризе Н.И. и др. // Терапевт. арх. – 2010. – №7. – С. 52-56.
23. Фриденштейн, А.Я. Стромальные клетки, ответственные за перенос микроокружения в кроветворной и лимфоидной ткани / А.Я. Фриденштейн, Р.К. Чайлахян, Н.В. Лациник // Проблемы гематологии. – 1973. – Т. 18, 10. – С. 14-22.
24. Шуваев, В.А. Коррекция нейтропении и тромбоцитопении, обусловленных терапией ингибиторами тирозинкиназ при хроническом миелолейкозе / В.А. Шуваев и др. // Онкогематология. – 2013. – № 4. – С. 7-12.
25. Шевела, Е.Я. Апластическая анемия: фенотип и функции мезенхимальных клеток костного мозга / Е.Я. Шевела, А.Д. Кулагин, М.А. Тихонова, Л.В. Сахно, И.В. Крючкова, И.А. Орловская, А.А. Останин, Е.Р. Черных. // Гематология и трансфузиология. - 2010. - №6. – С. 14-21.
26. Яицкий, Н.А. Язвы желудка и двенадцатиперстной кишки / Н.А. Яицкий, В.М. Седов, В.П. Морозов. – М.: МЕДпрессинформ, 2002. – 376 с.
27. Abudayyeh, A. Symptomatic BK Virus Infection Is Associated With Kidney Function Decline and Poor Overall Survival in Allogeneic Hematopoietic Stem

- Cell Recipients / A. Abudayyeh et al. // *Am. J. Transplant.* – 2016. – Vol. 16. – P.1492-1502.
28. Akpek, G. Effects of spleen status on early outcomes after hematopoietic cell transplantation / G. Akpek et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2013. – Vol. 48, № 6. – P. 825-831.
  29. Alchalby, H. Incidence and risk factors of poor graft function after allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis / H. Alchalby et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 51, № 9. – P. 1223-1227.
  30. Almeida, G.D. Bone Marrow Transplant / G.D. Almeida, J.L. Ascenso // *Leukemia and Lymphoma : Program at The University of Nevada School of Medicine, Washoe Medical Center and V.A. Medical Center, Reno, Nevada, USA.* – 2015. – Vol. 21. – P. 217-223.
  31. Almeida, G.D. Human Cytomegalovirus Alters Interleukin-6 Production by Endothelial Cells / G.D. Almeida et al. // *Blood.* – 1994. – Vol. 83, № 2. – P. 370-376
  32. Alvarado, L.J. Eltrombopag maintains human hematopoietic stem and progenitor cells under inflammatory conditions mediated by IFN- $\gamma$ . / L.J. Alvarado et al. // *Blood.* – 2019. – Vol. 133 (19). – P. 2043-2055.
  33. Anasetti, C. Graft-v-host disease is associated with autoimmune-like thrombocytopenia / C. Anasetti et al. // *Blood.* – 1989. – Vol. 73, № 4. – P. 1054-1058.
  34. Apperley, J.F. Cytomegalovirus: biology, clinical features and methods for diagnosis / J.F. Apperley, J.M. Goldman // *Bone Marrow Transplant.* – 1988. – Vol. 3. – P. 253-264.
  35. Armand, P. Prognostic impact of elevated pretransplantation serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem-cell transplantation / P. Armand et al. // *Blood.* – 2007. – Vol. 109, № 10. – P. 4586-4588.
  36. Aung, F.M. Pure Red Cell Aplasia in Major ABO-Mismatched Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Is Associated with Severe Pancytopenia

- nia / F.M. Aung et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 22. – P. 961-965.
37. Bacigalupo, A. Allogeneic hemopoietic SCT for patients with primary myelofibrosis: a predictive transplant score based on transfusion requirement, spleen size and donor type / A. Bacigalupo et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2010. – Vol. 45, № 3. – P. 458-463.
38. Bader, P. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? / P. Bader et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2005. – Vol. 35. – P. 107-119.
39. Baldrige, M.T. Quiescent hematopoietic stem cells are activated by IFN $\gamma$  in response to chronic infection / M.T. Baldrige et al. // *Nature.* – 2010. – Vol. 465, № 7299. – P. 793-797.
40. Banaji, M. The effects of splenectomy on engraftment and platelet transfusion requirements in patients with chronic myelogenous leukemia undergoing marrow transplantation / M. Banaji et al. // *Am. J. Hematol.* – 1986. – Vol. 22, № 3. – P. 275-283.
41. Barak, A.F. Tyrosine kinase inhibitors induced immune thrombocytopenia in chronic myeloid leukemia? / A.F. Barak et al. // *Hematol. Rep.* – 2011. – Vol. 3, № 3. – P. e29.
42. Barge, A.J. Antibody-mediated marrow failure after allogeneic bone marrow transplantation / A.J. Barge et al. // *Blood.* – 1989. – Vol. 74, № 5. – P. 1477-1480.
43. Baron, F. High doses of transplanted CD34+ cells are associated with rapid T-cell engraftment and lessened risk of graft rejection, but not more graft-versus-host disease after nonmyeloablative conditioning and unrelated hematopoietic cell transplantation / F. Baron et al. // *Leukemia.* – 2005. – Vol. 19, № 5. – P. 822-828.

44. Bernardo, M.E. Mesenchymal stromal cells and hematopoietic stem cell transplantation *Immunology Letters* / M.E. Bernardo, W.E. Fibbe // *Immunol. Lett.* – 2015. – Vol. 168, № 2. – P. 215-221.
45. Bierling, P.H. Platelet associated IgG after bone marrow transplantation for acute leukemia / P.H. Bierling et al. // *Exp. Hematol.* – 1983. – Suppl. 13. – P. 15.
46. Bilgrami, S. Pancytopenia in allogeneic marrow transplant recipients: role of cytomegalovirus / S. Bilgrami et al. // *Br. J. Haematol.* – 1994. – Vol. 87. – P. 357-362.
47. Bishop, M.R. A randomized, double-blind trial of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) versus placebo following allogeneic blood stem cell transplantation / M.R. Bishop et al. // *Blood.* – 2000. – Vol. 96. – P. 80-85.
48. Bittencourt, H. Granulocyte colony-stimulating factor for poor graft function after allogeneic stem cell transplantation: 3 days of G-CSF identifies long-term responders / H. Bittencourt et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2005. – Vol. 36. – P. 431-435.
49. Bloom, M.L. A mouse model of lymphocyte infusion-induced bone marrow failure / M.L. Bloom et al. // *Exp. Hematol.* – 2004. – Vol. 32, № 12. – P. 1163-1172.
50. Brand, A. On the role of HLA antibodies in hematopoietic stem cell transplantation / A. Brand, I.N. Doxiadis, D.L. Roelen // *Tissue Antigens.* – 2013. – Vol. 81. – P. 1-11.
51. Brown, K.E. Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus / K.E. Brown, S.M. Anderson, N.S. Young // *Science.* – 1993. – Vol. 262. – P. 114-117.
52. Bruno, B. Secondary failure of platelet recovery after hematopoietic stem cell transplantation / B. Bruno et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2001. – Vol. 7. – P. 154-162.

53. Bryder, D. Self-renewal of multipotent long-term repopulating hematopoietic stem cells is negatively regulated by Fas and tumor necrosis factor receptor activation / D. Bryder et al. // *J. Exp. Med.* – 2001. – Vol. 194, № 7. – P. 941-952.
54. Calvi, L.M. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche / L.M. Calvi et al. // *Nature.* – 2003. – Vol. 425. – P. 841-846.
55. Calvi, L.M. The hematopoietic stem cell niche in homeostasis and disease / L.M. Calvi, D.C. Link // *Blood.* – 2015. – Vol. 126, № 22. – P. 2443-2451.
56. Caocci, G. Bone Marrow Homing and Engraftment Defects of Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells Mediterr / G. Caocci, M. Greco, G. La Nasa // *J. Hematol. Infect. Dis.* – 2017. – Vol. 9, № 1. – P. e2017032.
57. Champlin, R.E. Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation / R.E. Champlin et al. // *Blood.* – 2000. – Vol. 95. – P. 3702-3709.
58. Chang, Y.-J. 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 / Y.-J. Chang et al. // *J. Hematol. Oncol.* – 2015. – Vol. 8. – P. 84.
59. Chen, J. Bystander destruction of hematopoietic progenitor and stem cells in a mouse model of infusion-induced bone marrow failure / J. Chen et al. // *Blood.* – 2004. – Vol. 104, № 6. – P. 1671-1678.
60. Chewning, J.H. Allogeneic Th1 cells home to host bone marrow and spleen and mediate IFN $\gamma$ -dependent aplasia / J.H. Chewning et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2013. – Vol. 19, № 6. – P. 876-887.
61. Childs, R. Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses / R. Childs et al. // *Blood.* – 1999. – Vol. 94, № 9. – P. 3234-3241.

62. Choi, C.M. Thrombotic Microangiopathy in Haematopoietic Stem Cell Transplantation / C.M. Choi et al. // *Drugs*. – 2009. – Vol. 69, № 2. – P.183-198.
63. Ciurea, S.O. Consensus Guidelines for the Detection and Treatment of Donor-specific Anti-HLA Antibodies (DSA) in Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation / S.O. Ciurea et al. // *Bone Marrow Transplant*. – 2018. – Vol. 53. – P. 521–534.
64. Cluzeau, T. Risk factors and outcome of graft failure after HLA matched and mismatched unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation: a study on behalf of SFGM-TC and SFHI / T. Cluzeau, J. Lambert, P. Loiseau // *Bone Marrow Transplant*. – 2016. – Vol. 51. – P. 687-691.
65. Daikeler, T. Autoimmunity following haematopoietic stem-cell transplantation / Daikeler, A. Tyndall // *Best Pract. Res. Clin. Haematol*. – 2007. – Vol. 20, Iss. 2. – P. 349-360.
66. de la Morena, M.T. History of haematopoietic stem-cell Transplantation / M.T. de la Morena, R.A. Gatti // *Nature Rev. Cancer*. – 2002. – Vol. 2. – P. 231-238.
67. Delisle, J.S. Graft-versus-host disease causes failure of donor hematopoiesis and lymphopoiesis in interferon-gamma receptor-deficient hosts / J.S. Delisle et al. // *Blood*. – 2008. – Vol. 112, № 5. – P. 2111-2119.
68. Dellinger, R.P. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock : 2012 / R.P. Dellinger et al. // *Crit. Care Med*. – 2013. – Vol. 41, № 2. – P. 580-637.
69. Ding, L. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells / Ding et al. // *Nature*. – 2012. – Vol. 481. – P. 457-462.
70. Dominietto, A. Factors influencing haematological recovery after allogeneic haemopoietic stem cell transplants: graft-versus-host disease, donor type, cytomegalovirus infections and cell dose / A. Dominietto et al. // *Br. J. Haematol*. – 2001. – Vol. 112. – P. 219-227.
71. Drugs for non-HIV viral infections // *Treat. Guidel. Med. Lett*. – 2010. – Vol. 8, № 98. – P. 71-82.

72. Duarte, R.F. Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe / R.F. Duarte et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2019. – Epub ahead of print .
73. Dyba, J. Eltrombopag after allogeneic haematopoietic cell transplantation in a case of poor graft function and systematic review of the literature / J. Dyba et al. *Transfus Med.* – 2016. – Vol. 26, № 3. – P. 202-207.
74. Dybedal, I. Tumor necrosis factor (TNF)–mediated activation of the p55 TNF receptor negatively regulates maintenance of cycling reconstituting human hematopoietic stem cells / I. Dybedal et al. // *Blood.* – 2001. – Vol. 98, № 6. – P. 1782-1791.
75. Ecsedi, M. Use of eltrombopag in aplastic anemia in Europe / M. Ecsedi et al. // *Ann. Hematol.* – 2019. – Vol. 98, № 6. – P. 1341-1350.
76. Eid, A.J. Reasonable Parvovirus B19 Infection after Transplantation: A Review of 98 Cases / A.J. Eid et al. // *CID.* – 2006. – Vol. 43. – P. 40-48.
77. Einhorn, L. Cytomegalovirus infection of human blood cells / L. Einhorn, A. Ost J. *Infect. Dis.* – 1984. – Vol. 149. – P. 207-214.
78. Emery, V. Management of cytomegalovirus infection in haemopoietic stem cell transplantation / V. Emery et al. // *Br. J. Haematol.* – 2013. – Vol. 162. – P. 25-39.
79. Faraci, M. Autoimmune Hematological Diseases after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children: An Italian Multicenter Experience / M. Faraci et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2014. – Vol. 20. – P. 272-278.
80. Ferrara, J.L. Graft-versus-host disease / J.L. Ferrara et al. // *Lancet.* – 2009. – Vol. 373. – P. 1550-1561.
81. Fiala, M. Cytomegalovirus mononucleosis with severe thrombocytopenia / M. Fiala, H. Kattlove // *Ann. Intern. Med.* – 1973. – Vol. 79. – P. 450-451.

82. First, L.R. Isolated Thrombocytopenia After Allogeneic Bone Marrow Transplantation: Existence of Transient and Chronic Thrombocytopenic Syndromes / L.R. First et al. // *Blood*. – 1985. – Vol. 65, № 2. – P. 368-374.
83. Frankel, W. Detection of chimerism and early engraftment after allogeneic peripheral blood stem cell or bone marrow transplantation by short tandem repeats / W. Frankel et al. // *Am. J. Hematol.* – 1996. – Vol. 52, Iss. 4. – 281-287.
84. Fu, H. Characterization of thrombopoietin kinetics within 60 days after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and its correlation with megakaryocyte ploidy distribution / H. Fu et al. // *Clin. Transplant.* – 2015. – Vol. 30, № 2. – 170-178.
85. Funke, A. Frequency, natural course, and outcome of neonatal neutropenia / A. Funke et al. // *Pediatrics*. – 2000. – Vol. 106, № 1, pt. 1. – P. 45-50.
86. Gale, R.P. Early and late graft-failure after transplants / R.P. Gale // *Bone Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 51, № 2. – P. 182-183.
87. Gandy, K.L. CD8<sup>+</sup> TCR<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> TCR<sup>-</sup> cells in whole bone marrow facilitate the engraftment of hematopoietic stem cells across allogeneic barriers / K.L. Gandy et al. // *Immunity*. – 1999. – Vol. 11, № 5. – P. 579-590.
88. Ganuza, M. Hematopoietic stem cells under pressure / M. Ganuza, S. McKinney-Freeman // *Curr. Opin. Hematol.* – 2017. – Vol. 24, № 4. – P. 314-321.
89. Garwin, K.S. Preferential suppression of myelopoiesis in normal human bone marrow cells after in vivo challenge with human cytomegalovirus / K.S. Garwin, F.W. Ruscetti // *Blood*. – 1990. – Vol. 75. – P. 1965-1973.
90. Geerman, S. Impact of T cells on hematopoietic stem and progenitor cell function: Good guys or bad guys? / S. Geerman, M.A. Nolte // *World J. Stem. Cells*. – 2017. – Vol. 9, № 2. – P. 37-44.
91. George, J.N. Thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome following allogeneic HPC transplantation: a diagnostic dilemma / J.N. George et al. // *Transfusion*. – 2004. – Vol. 44. – P. 294-304.



92. Giebel, S. Use of Tyrosine Kinase Inhibitors to Prevent Relapse After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients With Philadelphia Chromosome–Positive Acute Lymphoblastic Leukemia: A Position Statement of the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation / S. Giebel et al. // *Cancer*. – 2016. – Vol. 122, Iss. 19. – P. 2941-2951.
93. Glotzbecker, B. Important Drug Interactions in Hematopoietic Stem Cell Transplantation: What Every Physician Should Know / B. Glotzbecker et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2012. – Vol. 18, Iss. 7. – P. 989-1006.
94. Glucksberg, H. Clinical manifestations of graft versus host disease in human recipients of marrow from HLA- matched sibling donors / H. Glucksberg et al. // *Transplantation*. – 1974. – Vol. 18, № 4. – P. 295-304.
95. Goyette, R.E. Hematologic changes in sepsis and their therapeutic implications / R.E. Goyette, N.S. Key, E.W. Ely // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2004. – Vol. 25, № 6. – P. 645-660.
96. Grew, S.S. Secondary graft failure associated with parainfluenza virus infection following hematopoietic cell transplantation / S.S. Grew, J.A. van Burik, C. Peters // *Bone Marrow Transplant.* – 2005. – Vol. 35. – P. 425.
97. Grom, A.A. Macrophage activation syndrome in the era of biologic therapy / A.A. Grom, A. Horne, F. De Benedetti // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2016. – Vol. 12, № 5. – P. 259-268.
98. Guclu, E. Effect of severe sepsis on platelet count and their indices / E. Guclu, Y. Durmaz, O. Karabay // *Afr. Health Sci.* – 2013. – Vol. 13, № 2. – P. 333-338.
99. Gyurkocza, B. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all / B. Gyurkocza, B.M. Sandmaier // *Blood*. – 2014. – Vol. 124, № 3. – P. 344-355.
100. Haegele, S. Deficiency in thrombopoietin induction after liver surgery is associated with postoperative liver dysfunction / S. Haegele et al. // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, № 1. – P. e0116985.

101. Harrison, C.N. Current treatment algorithm for the management of patients with myelofibrosis, JAK inhibitors, and beyond / C.N. Harrison, D.P. McLornan // *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* – 2017. – Vol. 2017, № 1. – P. 489-497.
102. Hart, C. Splenic pooling and loss of VCAM-1 causes an engraftment defect in patients with myelofibrosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / C. Hart et al. // *Haematologica.* – 2016. – Vol. 101, № 11. – P. 1407-1416.
103. Heimfeld, S. HLA-identical stem cell transplantation: is there an optimal CD34 cell dose? / S. Heimfeld // *Bone Marrow Transplant.* – 2003. – Vol. 31. – P. 839-845.
104. Herrmann, P.C. Hemolytic anemia resulting from chemical and physical agents / P.C. Herrmann // *Hematology* / K. Kaushansky, M.A. Lichtman, E. Beutler. – 8<sup>th</sup> ed. – New York: McGraw-Hill, 2010. – P. 763-768.
105. Hill, J.A. The Cumulative Burden of Double-Stranded DNA Virus Detection after Allogeneic HCT is Associated with Increased Mortality / J.A. Hill et al. // *Blood.* – 2017. – Vol. 129, № 16. – P. 2316-2325.
106. Tanaka, H. Excessive Reactive Iron Impairs Hematopoiesis by Affecting Both Immature Hematopoietic Cells and Stromal Cells /H. Tanaka et al. // *Cells.*– 2019.– Vol. 8. – P. 226.
107. Hotchkiss, R.S. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis / R.S. Hotchkiss, D.W. Nicholson DW // *Nat. Rev. Immunol.* – 2006. – Vol. 6. –P. 813-822.
108. Jacobsen, F.W. Role of the 75-kDa tumor necrosis factor receptor: inhibition of early hematopoiesis / F.W. Jacobsen et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – Vol. 91, № 22. – P. 10695-10699.
109. Jodele, S. A new paradigm: Diagnosis and management of HSCT-associated thrombotic microangiopathy as multi-system endothelial injury / S. Jodele et al. // *Blood Rev.* – 2015. – Vol. 29, № 3. – P. 191-204.

110. Joffre, O. Prevention of acute and chronic allograft rejection with CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T lymphocytes / O. Joffre et al. // *Nat. Med.* – 2008. – Vol. 14, № 1. – P. 88-92.
111. Kalwak, K. Higher CD34(+) and CD3(+) cell doses in the graft promote long-term survival, and have no impact on the incidence of severe acute or chronic graft-versus-host disease after in vivo T cell-depleted unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation in children / K. Kalwak et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2010. – Vol. 16, № 10. – P. 1388-1401.
112. Kamakshi, V.R. Drug-Induced Hematologic Disorders [Electronic resource] / V.R. Kamakshi // *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach* / Eds. J.T. DiPiro et al. . – 9 ed. – Ch. 24. – McGraw-Hill Education, 2014. – Available at: <https://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?bookid=689&Sectionid=48811451>.
113. Karen, E.H. Characterization of bone marrow mesenchymal stromal cells in aplastic anaemia / E.H. Karen, W.E. Gordon, S.R. Pettengel // *BJH.* – 2015. – Vol. 169, Iss. 6. – P. 804-813.
114. Katagiri, T. Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia / T. Katagiri et al. // *Blood.* – 2011. – Vol. 118, № 25. – P. 6601-6609.
115. Kernan, N.A. Graft rejection in recipients of T-cell-depleted HLA-nonidentical marrow transplants for leukemia. Identification of host-derived antidonor alloctotoxic T lymphocytes / N.A. Kernan et al. // *Transplantat.* – 1987. – Vol. 43, № 6. – P. 842-847.
116. Khoury, H.J. Impact of posttransplantation G-CSF on outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / H.J. Khoury et al. // *Blood.* – 2006. – Vol. 107. – P. 1712-1716.
117. Kim, C.H. Conditioning for hematopoietic transplantation activates the complement cascade and induces a proteolytic environment in bone marrow: a novel

- role for bioactive lipids and soluble C5b-C9 as homing factors / C.H. Kim et al. // *Leukemia* – 2012. – Vol. 26. – P. 106-116.
118. King, C. Homeostatic Expansion of T Cells during Immune Insufficiency Generates Autoimmunity / C. King et al. // *Cell*. – 2004. – Vol. 117. – P. 265-277.
119. Klyuchnikov, E. CD34(+)-selected stem cell boost without further conditioning for poor graft function after allogeneic stem cell transplantation in patients with hematological malignancies / E. Klyuchnikov et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2014. – Vol. 20, № 3. – P. 382-386.
120. Komatsu, M. Antigen-primed CD8<sup>+</sup> T cells can mediate resistance, preventing allogeneic marrow engraftment in the simultaneous absence of perforin-, CD95L-, TNFR1-, and TRAIL-dependent killing / M. Komatsu // *Blood*. – 2003. – Vol. 101. – P. 3991-3999.
121. Kong, Y. Aberrant T cell responses in the bone marrow microenvironment of patients with poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Y. Kong et al. // *J. Translat. Med.* – 2017. – Vol. 15. – P. 57.
122. Kong, Y. Association of an impaired bone marrow microenvironment with secondary poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Y. Kong et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2013. – Vol. 19. – P. 1465-1473.
123. Kulagin A, Klimova O, Rudakova T, et al. Eculizumab followed by allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) for hemolytic paroxysmal nocturnal hemoglobinuria/severe aplastic anemia (hPNH/SAA). *Bone Marrow Transplant.* 2016;51(1): S90. doi: 10.1038/bmt.2016.46.
124. Kong, Y. N-acetyl-L-cysteine improves mesenchymal stem cell function in prolonged isolated thrombocytopenia post-allotransplant / Y. Kong et al. // *Br. J. Haematol.* – 2018. – Vol. 180, № 6. – P. 863-878.
125. Kong, Y. The bone marrow microenvironment is similarly impaired in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients with early and late poor graft

- function / Y. Kong et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 51. – P. 249-255.
126. Koshy, N. Eltrombopag Improves Poor Graft Function after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / N. Koshy et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2017. – Vol. 23. – P. S18-S391.
127. Kanakry, C.G. Modern approaches to HLA-haploidentical blood or marrow transplantation/ C.G. Kanakry, E.J. Fuchs, L. Luznik.// *Nat Rev Clin Oncol.* – 2016. – Vol.13, №1. – P.10-24.
128. Kroger, N. Allogeneic stem cell transplantation after reduced-intensity conditioning in patients with myelofibrosis: a prospective, multicenter study of the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation / N. Kroger et al. // *Blood.* – 2009. – Vol. 114, № 26. – P. 5264-5270.
129. Lapidot, T. Enhancement of T-cell-depleted bone marrow allografts in the absence of graft-versus-host disease is mediated by CD8<sup>+</sup> CD4<sup>-</sup> and not by CD8<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup> thymocytes / T. Lapidot et al. // *Blood.* – 1992. – Vol. 80, № 9. – P. 2406-2411.
130. Lapidot, T. How do stem cells find their way home? / T. Lapidot, A. Dar, O. Kollet // *Blood.* – 2005. – Vol. 106. – P. 1901-1910.
131. Larocca, A. Boost of CD34<sup>+</sup>-selected peripheral blood cells without further conditioning in patients with poor graft function following allogeneic stem cell transplantation / A. Larocca et al. // *Haematologica.* – 2006. – Vol. 91, № 7. – P. 935-940.
132. Lee, H.M. Fifth complement cascade protein (C5) cleavage fragments disrupt the SDF-1/CXCR4 axis: Further evidence that innate immunity orchestrates the mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells / H.M. Lee et al. // *Exp. Hematol.* – 2010. – Vol. 38, № 4. – P. 321-332.
133. Lee, K.H. Failure of trilineage blood cell reconstitution after initial neutrophil engraftment in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplanta-

- tion: frequency and outcomes / K.H. Lee et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2004. – Vol. 33. – P. 729-734.
134. Li, Z. Immune-Mediated Complications after Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Z. Li et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 22. – P. 1368-1375.
135. Lin, R. Diagnosis and treatment of viral diseases in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / R. Lin, Q. Liu // *J. Hematol. Oncol.* – 2013. – Vol. 17. – P. 94.
136. Locatelli, F. Current and future approaches to treat graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / F. Locatelli, B. Lucarelli, P. Merli // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2014. – Vol. 15, № 1. – P. 23-36.
137. Luznik, L. Post-transplantation cyclophosphamide for tolerance induction in HLA-haploidentical bone marrow transplantation / L. Luznik, P.V. O'Donnell, E.J. Fuchs // *Semin. Oncol.* – 2012. – Vol. 39, № 6. – P. 683-693.
138. Ma, S. Study of differential expression of cytokines between portal hypertensive hypersplenic tissue and normal splenic tissue by protein array / S. Ma et al. // *Chin. Arch. Gen. Surg.* – 2008. – Vol. 6. – P. 455-459.
139. Maciejewski, J. Fas antigen expression on CD34+ human marrow cells is induced by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha and potentiates cytokine-mediated hematopoietic suppression in vitro / J. Maciejewski et al. // *Blood.* – 1995. – Vol. 85, № 11. – P. 3183-3190.
140. Miller, P. D. E. Autoimmune cytopenias (AIC) following allogeneic haematopoietic stem cell transplant for acquired aplastic anaemia: a joint study of the Autoimmune Diseases and Severe Aplastic Anaemia Working Parties (ADWP/SAAWP) of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Electronic resource /P.D. E. Miller et all // *Bone Marrow Transplant.* 2019. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41409-019-0680-4>.

141. Marinella, M.A. Bone Marrow Biopsy to Evaluate Cytopenia in the ICU: An Analysis of 21 Patients / M.A. Marinella, R.J. Markert // JCOM. – 2010. – Vol. 17, № 3. – P. 117-123.
142. Marotta, S. Eltrombopag for post-transplant cytopenias due to poor graft function /S. Marotta et al. // Bone Marrow Transplant. – 2019.– Vol. 54. – P. 1346–1353.
143. Martin, P.J. Donor CD8 cells prevent allogeneic marrow graft rejection in mice: potential implications for marrow transplantation in humans / P.J. Martin // J. Exp. Med. – 1993. – Vol. 178, № 2. – P. 703-712.
144. Maruyama, K. Donor-Type Aplastic Anemia after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Common Cause of Late Graft Failure in Patients with Complete Donor Chimerism / K. Maruyama et al. // Blood. – 2014. – Vol. 124. – P. 2411.
145. Masouridi-Levrat, S. Immunological Basis of Bone Marrow Failure after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / S. Masouridi-Levrat, F. Simonetta, Y. Chalandon // Front. Immunol. – 2016. – Vol. 7. – P. 362.
146. Mattos, V.R.P. Secondary Hemophagocytic Syndrome / V.R.P. Mattos et al. // Blood. – 2014. – Vol. 124. – P. 4958.
147. Mattsson, J. Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. Biology of blood and marrow transplantation □ / J. Mattsson, Ringdén, R. Storb // J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant. – 2008. – Vol. 14, Suppl. 1. – P. 165-170.
148. McEuen, D.D. Myelopoiesis in the infected bum / D.D. McEuen, M. Ogawa, K. Eurenus // J. Lab. Clin. Med. – 1977. – Vol. 89. – P. 50-54.
149. McGlave, P.B. Unrelated donor marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: 9 years experience of the national marrow donor program / P.B. McGlave et al. // Blood. – 2000. – Vol. 95, № 7. – P. 2219-2225.
150. Means, R.T. Jr. Pure red cell aplasia / R.T. Means Jr. // Blood. – 2016. – Vol. 128.– P. 2504-2509.

151. Mehta, R.S. Post-transplantation cyclophosphamide versus conventional graft-versus-host disease prophylaxis in mismatched unrelated donor haematopoietic cell transplantation / R.S. Mehta et al. // *Br. J. Haematol.* – 2016. – Vol. 173. – P. 444-455.
152. Minamimura, K. CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells Are Spared from Deletion by Antilymphocyte Serum, a Polyclonal Anti-T Cell Antibody / K. Minamimura, Maki, W. Gao // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176, № 7. – P. 4125-4132.
153. Mitchell, O. The pathophysiology of thrombocytopenia in chronic liver disease / O. Mitchell et al. // *Hepat. Med.* – 2016. – Vol. 8. – P. 39-50.
154. Mittelman, M. Eltrombopag for advanced myelodysplastic syndromes or acute myeloid leukaemia and severe thrombocytopenia (ASPIRE): a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial / M. Mittelman et al. // *Lancet Haematol.* – 2018. – Vol. 5. – P. e34-43.
155. Mohty, M. 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 / M. Mohty et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 51, № 7. – P. 906-912.
156. Moiseev, I.S. Clinical and morphological practices in the diagnosis of transplant-associated microangiopathy: a study on behalf of Transplant Complications Working Party of the EBMT / I.S. Moiseev et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2018. – Epub ahead of print .
157. Mori, T. Involvement of Fas-mediated apoptosis in the hematopoietic progenitor cells of graft-versus-host reaction-associated myelosuppression / T. Mori et al. // *Blood.* – 1998. – Vol. 92, № 1. – P. 101-107.
158. Müller, A.M. Donor hematopoiesis in mice following total lymphoid irradiation requires host T-regulatory cells for durable engraftment / A.M. Müller et al. // *Blood.* – 2014. – Vol. 123, № 18. – P. 2882-2892.



159. Murphy, W.J. Acute rejection of murine bone marrow allografts by natural killer cells and T cells. Differences in kinetics and target antigens recognized / W.J. Murphy, V. Kumar, M. Bennett // *J. Exp. Med.* – 1987. – Vol. 166, № 5. – P. 1499-1509.
160. Murphy, W.J. Donor-type activated natural killer cells promote marrow engraftment and B cell development during allogeneic bone marrow transplantation / W.J. Murphy et al. // *J. Immunol.* – 1992. – Vol. 148, № 9. – P. 2953-2960.
161. Murphy, W.J. Interleukin-2-activated natural killer cells can support hematopoiesis in vitro and promote marrow engraftment in vivo / W.J. Murphy et al. // *Blood.* – 1992. – Vol. 80, № 3. – P. 670-677.
162. Neild, G. Parvovirus infection after renal transplant / G. Neild et al. // *Lancet.* – 1986. – Vol. 2. – P. 1226-1227.
163. Oh, A.L. Cytopenia of Unknown Cause Post Allogeneic Stem Cell Transplant As a Predictor of Clinical Outcome / A.L. Oh et al. // *Blood.* – 2016. – Vol. 128. – P. 5761.
164. Olson, T.S. Megakaryocytes promote murine osteoblastic HSC niche expansion and stem cell engraftment after radioablative conditioning / T.S. Olson et al. // *Blood.* – 2013. – Vol. 121, № 26. – P. 5238-5249.
165. Olsson, R. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT / R. Olsson et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2013. – Vol. 48, № 4. – P. 537-543.
166. Olsson, R.F. Primary Graft Failure after Myeloablative Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Hematologic Malignancies / R.F. Olsson et al. // *Leukemia.* – 2015. – Vol. 29, № 8. – P. 1754-1762.
167. Ozdemir, Z.N. Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Z.N. Ozdemir, S.C. Bozdağ // *Transfusion Apheresis Science.* – 2018. – Vol. 57, Iss. 2. – P. 163-167.

168. Pambrun, A. An Association between BK Virus Replication in Bone Marrow and Cytopenia in Kidney-Transplant Recipients Electronic resource / A. Pambrun et al. // *J. Transplant.* – 2014. – 9 p. – Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/252914>.
169. Papayannopoulou, T. Current mechanistic scenarios in hematopoietic stem/progenitor cell mobilization / T. Papayannopoulou // *Blood.* – 2004. – Vol. 103. – P. 1580-1585.
170. Pardanani, A. Definition and management of ruxolitinib treatment failure in myelofibrosis / A. Pardanani, A. Tefferi // *Blood Cancer J.* – 2014. – Vol. 4. – P. 268.
171. Passweg, J.R. Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2012 with special consideration of pediatric transplantation / J.R. Passweg et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2014. – Vol. 49, № 6. – P. 744-750.
172. Peralvo, J. Poor graft function associated with graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation / J. Peralvo et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 1987. – Vol. 2, № 3. – P. 279-285.
173. Pulsipher, M.A. Donor, recipient, and transplant characteristics as risk factors after unrelated donor PBSC transplantation: beneficial effects of higher CD34+ cell dose / M.A. Pulsipher et al. // *Blood.* – 2009. – Vol. 114, № 13. – P. 2606-2616.
174. Rajput, R. Acute Parvovirus B19 Infection Leading to Severe Aplastic Anemia in a Previously Healthy Adult Female / R. Rajput et al. // *Indian J. Hematol. Blood Transfus.* – 2012. – Vol. 28, № 2. – P. 123-126.
175. Rakusan, T.A. Inhibition of hemopoietic colony formation by human cytomegalovirus in vitro / T.A. Rakusan, H.S. Juneja, W.R. Fleischmann // *Infect. Dis.* – 1989. – Vol. 159. – P. 127-130.
176. Ratajczak, M.Z. Transplantation studies in C3-deficient animals reveal a novel role of the third complement component (C3) in engraftment of bone marrow cells / M.Z. Ratajczak et al. // *Leukemia.* – 2004. – Vol. 18. – P. 1482-1490.

177. Reca, R. Functional receptor for C3a anaphylatoxin is expressed by normal hematopoietic stem/progenitor cells, and C3a enhances their homing-related responses to SDF-1 / R. Reca et al. // *Blood*. – 2003. – Vol. 101. –P. 3784-3793.
178. Reca, R. The role of third complement component (C3) in homing of hematopoietic stem/progenitor cells into bone marrow / R. Reca et al. // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2006. – Vol. 586. – P. 35-51.
179. Ree, I.M.C. Thrombocytopenia in neonatal sepsis: Incidence, severity and risk factors / I.M.C. Ree et al. // *PLOS ONE*. – 2017. – Vol. 12, № 10. – P. e0185581.
180. Reisner, Y. From «megadose» haploidentical hematopoietic stem cell transplants in acute leukemia to tolerance induction in organ transplantation / Y. Reisner, M.F. Martelli // *Blood Cells Mol. Dis.* – 2008. – Vol. 40. – P. 1-7.
181. Reisner, Y. Role of Megadose CD34+ Progenitor Cells in the Treatment of Leukemia Patients without a Matched Donor and in Tolerance Induction for Organ Transplantation / Y. Reisner et al. // *Ann NY Acad. Sci.* – 1999. – Vol. 872. – P. 336-348.
182. Remberger, M. Effect of total nucleated and CD34(+) cell dose on outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / M. Remberger et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2015. – Vol. 21, № 5. – P. 889-893.
183. Rice, G.P. Cytomegalovirus infects human lymphocytes and monocytes: virus expression is restricted to immediate-early gene products / G.P. Rice, R.D. Schrier, M.B. Oldstone // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1984. – Vol. 81. –P. 6134-6138.
184. Riether, C. Regulation of hematopoietic and leukemic stem cells by the immune system / C. Riether, C.M. Schürch, A.F. Ochsenbein // *Cell. Death Differ.* – 2015.– Vol. 22, № 2. – P. 187-198.
185. Rihn, C. Definition of myeloid engraftment after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / C. Rihn et al. // *Haematologica*. – 2004. – Vol. 89. –P. 763-764.

186. Rondon, G. Long Term Follow Up Of Patients Who Experienced Graft failure Post Allogeneic Progenitor Cell Transplantation. Results of a Single Institution Analysis / G. Rondon et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2008. – Vol. 14, № 8. – P. 859-866.
187. Rosenfeld, S.I. Viruses and bone marrow failure / S.I. Rosenfeld, N.S. Young // *Blood Reviews.* – 1991. – Vol. 5. – P. 71-77.
188. Rottman, M. IFN- $\gamma$  mediates the rejection of haematopoietic stem cells in IFN- $\gamma$ R1-deficient hosts / M. Rottman et al. // *PLoS Med.* – 2008. – Vol. 5, № 1. –P. e26.
189. Ruggeri, L. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants / L. Ruggeri et al. // *Science.* – 2002. – Vol. 295, № 5562. – P. 2097-2100.
190. Sanz, J. Autoimmune hemolytic anemia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult patients / J. Sanz et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2007. – Vol. 39, № 9. – P. 555-561.
191. Sasine, J.P. Concise Review: Paracrine Functions of Vascular Niche Cells in Regulating Hematopoietic Stem Cell Fate / J.P. Sasine, K.T. Yeo, J.P. Chute // *Stem. Cells Transl. Med.* – 2017. – Vol. 6, № 2. – P. 482-489.
192. Savani, B.N. Peripheral blood stem cell graft compared to bone marrow after reduced intensity conditioning regimens for acute leukemia: a report from the ALWP of the EBMT / B.N. Savani et al. // *Haematologica.* – 2016. – Vol. 101, № 2. – P. 256-262.
193. Scadden, D.T. The stem-cell niche as an entity of action / D.T. Scadden // *Nature.* – 2006. – Vol. 441, № 7097. – P. 1075-1079.
194. Schraufstatter, I.U. Complement activation in the context of stem cells and tissue repair / I.U. Schraufstatter, S.K. Khaldoyanidi, R.G. DiScipio // *World J. Stem Cells.* – 2015. – Vol. 7, № 8. – P. 1090-1108.

195. Schroeder, M.A. The Role of Janus Kinase Signaling in Graft-Versus-Host Disease and Graft Versus Leukemia / M.A. Schroeder et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2018. – Vol. 24, Iss. 6. – P. 1125-1134.
196. Selleri, C. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha suppress both early and late stages of hematopoiesis and induce programmed cell death / C. Selleri et al. // *J. Cell. Physiol.* – 1995. – Vol. 165, № 3. – P. 538-546.
197. Shaheen, M. Impact of initial serum ferritin on early post-HSCT complications: a single-center study / M. Shaheen et al. // *Cellular Therapy and Transplant.* – 2016. – Vol. 5, № 2. – P. 40-49.
198. Shatry, A. In situ activation and expansion of host Tregs: a new approach to enhance donor chimerism and stable engraftment in major histocompatibility complex-matched allogeneic hematopoietic cell transplantation / A. Shatry, R.B. Levy // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2009. – Vol. 15, № 7. – P. 785-794.
199. Shi, M. Dysfunction of Bone Marrow Endothelial Progenitor Cells from Subjects with Poor Graft Function Following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Can be Improved By Atorvastatin / M. Shi et al. // *Blood.* – 2016. – Vol. 28. – P. 3386.
200. Shimabukuro-Vornhagen, A. Cytokine release syndrome / A. Shimabukuro-Vornhagen et al. // *J. Immunother Cancer.* – 2018. – Vol. 6. – P. 56.
201. Shoup, M. Mechanisms of Neutropenia Involving Myeloid Maturation Arrest in Burn Sepsis / M. Shoup et al. // *Ann. Surg.* – 1998. – Vol. 228, № 1. – P. 112-122.
202. Simmons, P. Mechanisms of cytomegalovirus-mediated myelosuppression: perturbation of stromal cell function versus direct infection of myeloid cells / P. Simmons, K. Kaushansky, B. Torok-Storb // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – Vol. 87, № 4. – P.1386-90.
203. Sloand, E. Young Intracellular interferon- in circulating and marrow T cells detected by flow cytometry and the response to immunosuppressive therapy in pa-

- tients with aplastic anemia / E. Sloand et al. // *Blood*. – 2002. – Vol. 100. – P. 1185-1191.
204. Snoeck, H.-W. Interferon gamma selectively inhibits very primitive CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> and not more mature CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> human hematopoietic progenitor cells / H.-W. Snoeck et al. // *J. Exp. Med.* – 1994. – Vol. 180, № 3. – P. 1177-1182.
205. Song, Y. Dysfunctional Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Patients with Poor Graft Function after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Y. Song et al. // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2018. – Vol. 24, Iss. 10. – P. 1981-1989.
206. Stasia, A. CD34<sup>+</sup> selected cells for the treatment of poor graft function following allogeneic stem cell transplantation / A. Stasia et al. // *Blood*. – 2013. – Vol. 122. – P. 3306.
207. Steiner, D. Tolerance induction by third-party “off-the-shelf” CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg cells / D. Steiner et al. // *Exp. Hematol.* – 2006. – Vol. 34, № 1. – P. 66-71.
208. Sun, H. Eltrombopag, a thrombopoietin receptor agonist, enhances human umbilical cord blood hematopoietic stem/primitive progenitor cell expansion and promotes multi-lineage hematopoiesis / H. Sun et al. // *Stem. Cell. Res. (Amst)*. – 2012. – Vol. 9, № 2. – P. 77-86.
209. Sun, Y.Q. The incidence, risk factors, and outcomes of primary poor graft function after unmanipulated haploidentical stem cell transplantation / Y.Q. Sun et al. // *Ann Hematol.* – 2015. – Vol. 94, № 10. – P. 1699-1705.
210. Tamari, R. Poor graft function in recipients of T-cell depleted (TCD) allogeneic hematopoietic cell transplants (HSCT) is mostly related to viral infections and anti-viral therapy / R. Tamari et al. // *Blood*. – 2012. – Vol. 120. – P. 3147.
211. Taylor, P.A. Preformed antibody, not primed T cells, is the initial and major barrier to bone marrow engraftment in allosensitized recipients / P.A. Taylor et al. // *Blood*. – 2007. – Vol. 109, № 3. – P. 1307-1315.

212. Thomas, E.D. Bone-marrow transplantation (second of two parts) / E.D. Thomas et al. // *New Engl. J. Med.* – 1975. – Vol. 292. – P. 895-902.
213. Trivedi, M. Optimal use of G-CSF administration after hematopoietic SCT / M. Trivedi et al. // *Bone Marrow Transplant.* – 2009. – Vol. 43, № 12. –P. 895-908.
214. Uderzo, C.C. Transplant-Associated Thrombotic Microangiopathy (TA-TMA) and Consensus Based Diagnostic and Therapeutic Recommendations: Which TA- TMA Patients to Treat and When? / C.C. Uderzo et al. // *J. Bone Marrow Res.* – 2014. – Vol. 2. – P. 3.
215. US National Library of Science Electronic resource // *ClinicalTrials.gov.* – 2015. – Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01818492?term=NCT01818492&rank=1>.
216. Valcarcel, D. Graft Failure / D. Valcarcel, A. Sureda // *The EBMT Handbook. Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies* / ed. E. Carreras et al. . – Springer, Cham, 2019. – P. 314-314.
217. Vatsayan, A. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH) after Hematopoietic Stem Cell Transplant (HSCT) or an Impostor: A Word of Caution! / A. Vatsayan,L. Cabral, R. Abu-Arja // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 22. – P. S262-S263.
218. Verdonck, L.F. Cytomegalovirus infection causes delayed platelet recovery after bone marrow transplantation / L.F. Verdonck et al. // *Blood.* – 1991. – Vol. 78. – P. 844-848.
219. von Bonin, M. Concise Review: The Bone Marrow Niche as a Target of Graft Versus Host Disease / M. von Bonin, M. Bornhäuser // *Stem Cells.* – 2014. – Vol. 32. – P. 1420-1428.
220. Watanabe, J. Preconditioning of bone marrow-derived mesenchymal stem cells with N-acetyl-L-cysteine enhances bone regeneration via reinforced resistance to oxidative stress / J. Watanabe et al. // *Biomaterials.* – 2018. – Vol. 185. – P. 25-38.

221. Wingard, J. Impact of CMV in Stem Cell Transplantation / 2003 Tandem BMT Meetings / J. Wingard, M. Boeckh, G. Nichols // Blood Marrow Transplant. Rev.– 2003. – Vol. 13, № 2. – P. 1-14.
222. Wysoczynski, M. Defective engraftment of C3aR-/- hematopoietic stem progenitor cells shows a novel role of the C3a-C3aR axis in bone marrow homing / M. Wysoczynski et al. // Leukemia. – 2009. – Vol. 23. – P. 1455-1461.
223. Xiao, Y. Risk-Factor Analysis of Poor Graft Function after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation International / Y. Xiao et al. // J. Med. Sci. – 2014. – Vol. 11, № 6. – P. 652-657.
224. Xu, H. Humoral immunity is the dominant barrier for allogeneic bone marrow engraftment in sensitized recipients / H. Xu et al. // Blood. – 2006. – Vol. 108, № 10. – P. 3611-3619.
225. Yoshida, N. Donor-Type Aplasia After Bone Marrow Transplantation in Children with Aplastic Anemia: A Nationwide Retrospective Study / N. Yoshida et al. // Blood. – 2012. – Vol. 120. – P. 959.
226. Yu, J.-M. Expression of interferon- $\gamma$  by stromal cells inhibits murine long-term repopulating hematopoietic stem cell activity / J.-M. Yu et al. // Exp. Hematol. – 1999. – Vol. 27, № 5. – P. 895-903.
227. Zaimoku, Y. Identification of an HLA class I allele closely involved in the autoantigen presentation in acquired aplastic anemia / Y. Zaimoku et al. // Blood. – 2017. – Vol. 129. – P. 2908-2916.
228. Zeng, D. Unique patterns of surface receptors, cytokine secretion, and immune functions distinguish T cells in the bone marrow from those in the periphery: impact on allogeneic bone marrow transplantation / D. Zeng et al. // Blood. – 2002. – Vol. 99. – P. 1449-1457.
229. Zeng, W. Interferon-gamma-induced gene expression in CD34 cells: identification of pathologic cytokine-specific signature profiles / W. Zeng et al. // Blood. – 2006. – Vol. 107, № 1. – P. 167-175.



230. Zhang, J. Eltrombopag versus romiplostim in treatment of adult patients with immune thrombocytopenia: A systematic review incorporating an indirect-comparison meta-analysis / J. Zhang et al. // PLOS ONE. – 2018. – Vol. 13, № 6. – P. e0198504.
231. Zhang, Y. Tumor necrosis factor (TNF) is a physiologic regulator of hematopoietic progenitor cells: increase of early hematopoietic progenitor cells in TNF receptor p55-deficient mice in vivo and potent inhibition of progenitor cell proliferation by TNF alpha in vitro / Y. Zhang et al. // Blood. – 1995. – Vol. 86, 8. – P. 2930-2937.
232. Zhou, B.O. Hematopoietic stem and progenitor cells regulate the regeneration of their niche by secreting Angiopoietin-1 / B.O. Zhou, L. Ding, S.J. Morrison // Elife. – 2015. – Vol. 4. – P. e05521.