

# Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток с деплецией альфа/бета Т-лимфоцитов и коротким курсом экулизумаба у подростков и молодых взрослых с пароксизмальной ночной гемоглобинурией

Д.А. ШАШЕЛЕВА, А.А. МАСЧАН, Л.Н. ШЕЛИХОВА, У.Н. ПЕТРОВА, Е.Е. КУРНИКОВА, О.И. ИЛЛАРИОНОВА, Е.В. БОЯКОВА, Г.А. НОВИЧКОВА, М.А. МАСЧАН

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России, отдел оптимизации лечения и профилактики осложнений трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, Москва, Россия

## Резюме

**Цель.** Оптимизировать подходы к трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у подростков и молодых взрослых с пароксизмальной ночной гемоглобинурией (ПНГ) путем снижения риска реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и посттрансплантационных осложнений.

**Материалы и методы.** Мы описываем опыт ТГСК от HLA-совместимых неродственных доноров с использованием деплеции альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-клеток у 5 пациентов (1 мужчина, 4 женщины) с ПНГ, развившейся в результате эволюции приобретенной апластической анемии (АА) после успешной иммуносупрессивной терапии (ИСТ). Медиана возраста пациентов на момент трансплантации составила 17,8 года (14,5–22,7 года), медиана интервала до диагностики ПНГ – 4 года (5 мес–6,5 лет) от проведения ИСТ. У всех пациентов присутствовали признаки нетяжелой костномозговой недостаточности: гранулоциты  $0,8 \cdot 10^9/\text{л}$  ( $0,8\text{--}1,8 \cdot 10^9/\text{л}$ ), тромбоциты  $106 \cdot 10^9/\text{л}$  ( $27\text{--}143 \cdot 10^9/\text{л}$ ), гемоглобин –78 г/л, медиана размера ПНГ-клона во фракции гранулоцитов составила 94% (75–99%). У одной пациентки в анамнезе был тромбоз мозговых венозных синусов. Кондиционирование состояло из торакоабдоминального облучения (ТАО) 4–6 Гр, циклофосфамида 100 мг/кг, флударабина 150 мг/м<sup>2</sup> и лошадиного антитимочного глобулина/алемтузумаба. Экулизумаб вводили со дня –7 до дня +14 1 раз в 7 дней, всего 4 введения, профилактика РТПХ/отторжения состояла из такролимуса ± метотрексат.

**Результаты.** Клеточные характеристики трансплантата были следующими: CD34+/кг  $8,1 \cdot 10^6/\text{кг}$ , альфа/бета Т-лимфоциты/кг  $150 \cdot 10^3/\text{кг}$ , гамма/дельта Т-лимфоциты/кг  $7,3 \cdot 10^6/\text{кг}$ , CD19+/кг  $221 \cdot 10^3/\text{кг}$ , NK/кг  $6,4 \cdot 10^9/\text{кг}$ . Приживление достигнуто у всех пациентов с медианой 15(12–18) и 13(10–18) дней для гранулоцитов и тромбоцитов соответственно. Острая РТПХ I стадии, потребовавшая короткого курса глюкокортикоидов, развилась у одного пациента, развития хронической РТПХ не зафиксировано. Реактивация цитомегаловируса развилась у 1 пациента, реактивации вируса Эпштейна–Барр и аденовируса не наблюдалось. У всех пациентов ко дню +30 достигнут полный донорский химеризм в миелоидном ростке. Иммунореконституция наступала с медианой 6 мес после ТГСК (от 4 до 10 мес после ТГСК), однако клинически значимых инфекций, связанных с Т-клеточным дефицитом, не отмечено. Все пять пациентов живы на сроках 1,7–5,5 лет (медиана 4 года) после ТГСК с нормальным гемопоэзом, полным количественным восстановлением показателей иммунитета и не имеют поздних осложнений ТГСК.

**Заключение.** Трансплантация гемопоэтических предшественников с деплецией альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-клеток после иммуноаблативного кондиционирования и перитрансплантационной терапией экулизумабом является эффективным и безопасным методом дефинитивного лечения молодых пациентов с ПНГ.

*Ключевые слова:* пароксизмальная ночная гемоглобинурия, трансплантация, деплеция альфа/бета Т-лимфоциты и CD19-клеток, неродственные доноры, подростки, молодые взрослые, экулизумаб.

## Hematopoietic stem cell transplantation with alpha/beta T-lymphocyte depletion and short course of eculizumab in adolescents and young adults with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

D.A. SHASHELEVA, A.A. MASCHAN, L.N. SHELIKHOVA, U.N. PETROVA, E.E. KURNIKOVA, O.I. ILLARIONOVA, E.V. BOYAKOVA, G.A. NOVICHKOVA, M.A. MASCHAN

Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Department of optimization treatment and prevention of complications of hematopoietic stem cell transplantation, Moscow, Russia

**The main** goal is to optimize hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) approach among adolescents and young adults with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) by means of Graft-versus-host disease (GVHD) and post-transplant complications risk lowering.

**Materials and methods.** We report our experience of HSCT from HLA-matched unrelated donors using TCR alpha/beta and CD19 depletion in 5 pts (1M/4F) with PNH, developed after successful immunosuppressive therapy (IST) of acquired aplastic anemia (AA). Median age of pts at the moment of transplantation was 17,8 years (range 14,5-22,7), median interval from IST to PNH was 4 years (5mo – 6,5 y). In all patients non-severe pancytopenia was present: granulocytes  $0,8 \times 10^9/\text{l}$  ( $0,8\text{--}1,8 \times 10^9/\text{l}$ ) platelets  $106 \times 10^9/\text{l}$  ( $27\text{--}143 \times 10^9/\text{l}$ ) and Hb -78 g/l, median PNH clone size in granulocytes was 94 (range 75-99)%. One pts previously developed sinus thrombosis. Conditioning consisted of thoraco-abdominal irradiation 4-6 Gy, cyclophosphamide 100 mg/kg, fludarabine 150 mg/m<sup>2</sup> and anti-thymocyte globulin (ATG) or alemtuzumab. Eculizumab was given from day (-7) till day (+14) (every 7 days, only 4 times). GVHD prophylaxis was tacrolimus ± methotrexate.

**Results.** Infusedgraft characteristics were: CD34+ -  $8,1 \times 10^6/\text{kg}$ , CD3TCRab- $150 \times 10^3/\text{kg}$ , CD3gd+ -  $7,3 \times 10^6/\text{kg}$ , CD19+ -  $221 \times 10^3/\text{kg}$ , NK -  $6,4 \times 10^9/\text{kg}$ . Engraftment was achieved in all 5 pts with a median of 15(12-18) and 13(10-18) days for granulocytes and platelets, respectively. Skin acute GVHD grade I developed in only 1 pt, and subsided with short course of glucocorticoids. CMV reactivation occurred in 1 pt; there were no episodes of Epstein-Barr Virus (EBV) or Adenovirus (AdV) reactivation. Full donor myeloid chimerism was established in all

pts by day +30. Immune reconstitution was delayed until 6 months after transplant but no severe infections occurred. All pts are alive 1,7-5,5 years (med 4 years) after HSCT with normal hematopoiesis and immune function, full donor chimerism and no late sequelae.

**Conclusions.** Transplantation of TCR $\alpha$ / $\beta$  and CD19 depleted hematopoietic cells from matched unrelated donor after immunoablative conditioning and supported with short course of eculizumab is perfectly safe and efficient technology leading to cure in young patients with PNH.

*Keywords:* paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, TCR  $\alpha$ / $\beta$  and CD19 depletion, transplantation, adolescents, young adults, eculizumab.

АА – апластическая анемия (aplastic anemia)  
 АА/ПНГ – пароксизмальная ночная гемоглобинурия, диагностируемая на фоне апластической анемии  
 АТГ – антигитомоцитарный глобулин (лошадиный)  
 ГФИ – гликозилфосфатидилинозитол  
 ИСТ – иммуносупрессивная терапия  
 КТП – короткие tandemные повторы  
 ЛДГ – лактатдегидрогеназа  
 МДС – миелодиспластический синдром  
 ОВ – общая выживаемость  
 ОМЛ – острый миелоидный лейкоз  
 ПАА – приобретенная апластическая анемия  
 ПНГ – пароксизмальная ночная гемоглобинурия  
 ПО – полный ответ  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция  
 РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»  
 ТАО – торакоабдоминальное облучение  
 ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток  
 ТОТ – тотальное облучение тела  
 ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз  
 ЦМВ – цитомегаловирус  
 ЧО – частичный ответ  
 ЭБВ – вирус Эпштейна – Барр  
 AdV – adenovirus (аденовирус)  
 АТГ – anti-thymocyte globulin (антигитомоцитарный глобулин)

CsA – ciclosporin A (циклоспорин А)  
 CMV – cytomegalovirus (цитомегаловирус)  
 DAF – decay-accelerating factor [фактор ускорения распада (комплемента)]  
 EBMT – European Bone Marrow Transplantation Registry (европейский реестр трансплантации костного мозга)  
 FLAER – fluorescein-labeled proaerolysin (флуоресцентно меченый проаэролизин)  
 GPI – glycosylphosphatidylinositol (гликозилфосфатидилинозитол)  
 HEPA – High Efficiency Particulate Air (воздушные фильтры высокой эффективности)  
 HLA – human Leukocyte Antigens (человеческие лейкоцитарные антигены)  
 HSCT – hematopoietic stem cell transplantation (трансплантация гемопоэтических стволовых клеток)  
 IST – immunosuppressive therapy (иммуносупрессивная терапия)  
 MIRL – membraneInhibitorofReactiveLysis (мембранный ингибитор реактивного лизиса)  
 NK – natural killer (натуральные киллеры)  
 PNH – paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (пароксизмальная ночная гемоглобинурия)  
 RT-PCR – Real-Time Polymerase chain reaction (полимеразная цепная реакция в реальном времени)  
 STR – short tandem repeats (короткие tandemные повторы)  
 TCR – T-cell receptor (Т-клеточный рецептор)

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) является редким (1,3 новых случая на 1 млн в год, у детей – в 10 раз реже) клональным заболеванием крови, характеризующимся хроническим внутрисосудистым гемолизом с более или менее редкими кризами, гемоглобинурией, тромбозами, особенно в нестандартных локализациях (синдром Бадда – Киари, тромбоз внутричерепных венозных синусов и мезентериальных вен), а также широким спектром негематологических проявлений. Висцеральные проявления ПНГ связаны с деплецией монооксида азота в результате его окисления свободным гемоглобином плазмы и являются проявлением нарушения кровоснабжения в

микроциркуляторном русле [1]. Среди наиболее клинически значимых негематологических проявлений ПНГ необходимо отметить увеличенный риск ишемических инсультов, резко повышенную утомляемость, боли в животе, дисфагию, а также нарушение эректильной функции. Патогенетической основой развития ПНГ является соматическая мутация в X-сцепленном гене синтазы фосфатидилинозитол гликозида класса А (PIG-A) в одной/нескольких стволовой(ых) клетках костного мозга. Возможно образование как миссенс-, так и нонсенс-мутаций, которые вызывают частичный или абсолютный дефицит гликозилфосфатидилинозитол-связанных (ГФИ-связанных) белков в мембране клеток [2]. Результатом является снижение мембранной экспрессии многих важных белков, среди которых ключевые ингибиторы комплемент-зависимого лизиса DAF (CD55) и MIRL (CD59); что резко повышает чувствительность клеток крови к мембраноатакующему комплексу комплемента C5–C9. Последний образуется в небольших количествах постоянно и в больших количествах – под влиянием различных факторов внешней среды, особенно при инфекциях.

ПНГ может возникнуть как самостоятельное заболевание (*de novo*), так и развиваться на фоне успешной иммуносупрессивной терапии приобретенной апластической анемии (ПАА/ПНГ) или, крайне редко, сопутствовать миелодиспластическому синдрому (МДС/ПНГ). В настоящее время выделяют 3 основных формы ПНГ:

*Сведения об авторах:*

Масчан Алексей Александрович – зам. генерального директора по научной работе, ORCID 0000-0002-0016-6698

Шелихова Лариса Николаевна – зав. отд-нием ТГСК №1, ORCID 0000-0003-0520-5630

Петрова Ульяна Николаевна – врач-гематолог отд-ния детской гематологии и онкологии, ORCID0000-0002-1258-8281

Курникова Елена Евгеньевна – врач-трансфузиолог отд-ния трансфузиологии, заготовки и процессинга ГСК, ORCID 0000-0003-4767-5382

Илларионова Ольга Ивановна – врач-лаборант лаб. клеточной иммунологии и иммуногенеза, 0000-0003-2685-674X

Боякова Елена Викторовна – зав. лаб. трансплантационной иммунологии и иммунотерапии гемобластозов

Новичкова Галина Анатольевна – медицинский директор, зам. генерального директора по научно-клинической работе, ORCID 0000-0003-4911-0553

Масчан Михаил Александрович – зам. генерального директора, директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины, ORCID 0000-0003-1735-0093

*Контактная информация:*

Шашелева Дарья Алексеевна – врач-гематолог отд-ния ТГСК №1, ORCID 0000-0002-5641-8567; тел.: +7(926)576-89-12, e-mail: shasheleva@mail.ru

1. Классическая форма, характеризующаяся клиническими и лабораторными признаками внутрисосудистого гемолиза без выраженной костномозговой недостаточности (т.е. с нормальными/незначительно сниженными показателями тромбоцитов и гранулоцитов, а также гемоглобина во внекризовый период).

2. ПНГ, диагностируемая у пациентов с ПАА (АА/ПНГ) и крайне редко с МДС или миелофиброзом (МДС/ПНГ и миелофиброз/ПНГ), которая характеризуется главным образом панцитопенией в сочетании с клиническими и/или лабораторными признаками внутрисосудистого гемолиза и наличием ПНГ-клона.

3. Субклиническая форма ПНГ диагностируется при отсутствии как клинических, так и лабораторных признаков гемолиза, но при наличии минорного клона клеток с ПНГ-фенотипом (<1%) [3].

Для первой и второй форм болезни основным угрожаящим жизни осложнением являются тромбозы, которые и определяют жизненный прогноз пациентов. Существуют определенные различия в клинических проявлениях заболевания между детьми и взрослыми. У взрослых превалирует классическая форма, а у детей ПНГ чаще протекает на фоне заболеваний, сопровождающихся костномозговой недостаточностью, в частности ПАА. Приблизительно у 40–53% детей в дебюте ПАА выявляются минорные клоны ПНГ [4, 5]. В некоторых исследованиях показано, что наличие минорных клонов ПНГ является предиктором успеха комбинированной иммуносупрессивной терапии, однако в других исследованиях такой корреляции не отмечено [6, 7].

До относительно недавнего времени патогенетического лечения ПНГ не существовало. Консервативное лечение заключалось в трансфузиях после тяжелых гемолитических кризов и профилактике тромбозов, как правило, не очень успешное. Медиана общей выживаемости (ОВ) пациентов с ПНГ с использованием консервативной терапии составляла 10–14 лет [8, 9]. Радикальное лечение – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) предлагалась пациентам относительно редко как вследствие недоступности совместимых доноров для большинства пациентов, так и в связи с опасениями осложненного течения посттрансплантационного периода. Долгосрочная ОВ пациентов с ПНГ, получивших аллогенную ТГСК, достигала в лучшем случае 60–70%, особенно при трансплантации от неродственных доноров. При этом результаты трансплантации существенно лучше в группе пациентов, трансплантированных по поводу гемолитической ПНГ, без тромбозов в анамнезе. Группа же пациентов, имевших тромбозы, характеризовалась наихудшей выживаемостью [10, 11]. Следует отметить, что у менее половины из 211 пациентов, включенных в самое крупное исследование (ЕВМТН 2012 г.), производили трансплантации после «жесткого» миелоаблативного кондиционирования бусульфаном и тотальным облучением тела (ТОТ) в сочетании с полными дозами циклофосфида [11].

Драматическое изменение клинического течения и улучшение прогноза пациентов с ПНГ стало возможным с появлением в лечебном арсенале экулизумаба – гуманизированного моноклонального антитела, связывающего С5а и препятствующего дальнейшему формированию мембраноатакующего комплекса. Лечение экулизумабом нивелирует как гемолиз, так и все остальные проявления ПНГ, в результате происходит радикальное улучшение как качества, так и продолжительности жизни. Сегодня продолжительность жизни пациентов с ПНГ, получаю-

щих регулярную терапию экулизумабом, не отличается от продолжительности жизни здоровых людей того же возраста, поэтому именно экулизумаб провозглашен «золотым стандартом» терапии пациентов с «гемолитической» формой ПНГ.

В то же время все сравнения эффективности экулизумаба и ТГСК являются ретроспективными, и пулированные данные по результатам трансплантации включают большое число пациентов, получивших трансплантацию еще в «старую эру» – т.е. до усовершенствования критериев тканевой совместимости, внедрения режимов кондиционирования со сниженной токсичностью и, что особенно важно, до усовершенствования технологии профилактики отторжения/болезни «трансплантат против хозяина». Кроме того, лечение экулизумабом крайне дорого и доступно далеко не всем пациентам, и даже в случае бесперебойного обеспечения «привязывает» пациента к месту оказания медицинской помощи и ограничивает его личностную и социальную адаптацию. Наконец, дети, подростки и молодые взрослые с ПНГ *a priori* являются именно той популяцией, в которой результаты ТГСК всегда были существенно лучше, чем у пациентов среднего и пожилого возраста, а потому поиск подходов к улучшению результатов трансплантации у этих пациентов является оправданным, ибо успешная трансплантация, как отмечено ранее, является единственным радикальным методом излечения пациентов с ПНГ. При этом «трансплантационный стресс» – главным образом терапия антитимоцитарным глобулином (лошадиным) (АТГ) и инфекции – с большой вероятностью могут стать триггером как гемолиза, так и тромбозов, поэтому краткосрочное «сопровождение» процедуры ТГСК экулизумабом является логичным решением.

В данной статье мы суммируем наш опыт ТГСК от неродственного донора с применением технологии деплеции альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-клеток и «перитрансплантационным» лечением экулизумабом у 5 подростков и молодых взрослых с ПНГ.

## Материалы и методы

У пациентов с подозрением на ПНГ [на основании наличия гемоглинурии, повышения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), концентрации билирубина и количества ретикулоцитов] диагноз подтверждался с помощью метода проточной цитофлуориметрии. При инициальной диагностике ПНГ на первом этапе проводилось скрининговое выявление снижения связывания с гранулоцитами флуоресцентно меченого проаэролизина (FLAER) [12]. В случае обнаружения FLAER-негативных нейтрофилов выполнялось расширенное определение ПНГ-клона на основании выявления снижения/отсутствия экспрессии CD59 на эритроцитах, а также отсутствия FLAER и ГФИ-связанных белков CD24 и CD14 на гранулоцитах и моноцитах соответственно. Мониторинг ПНГ-клона после ТГСК проводился в расширенном формате [13].

Миелодиспластический синдром исключался на основании морфологического и цитогенетического исследования костного мозга.

Ни у одного пациента не обнаружено семейного HLA-совместимого донора. Неродственные доноры подбирались в международной базе данных через регистр Stefan Morsch Stiftung с подтверждающим типированием в независимой лаборатории. Все доноры совместимы по всем 10 аллелям HLAA, D, C, DR, DQ на основании молекулярного HLA-типирования высокого разрешения.

**Таблица 1. Характеристика пациентов**

Пациент/пол, возраст, лет	Тяжесть ПАА/ возраст диагноза ПАА, лет	Лечение ПАА/ результат	Интервал до развития ПНГ/ лет	Размер ПНГ-клона (гран.), %	Лабораторные показатели на момент начала ТГСК
Больной Ш.М., муж/22	Сверхтяжелая ПАА/13,5	АТГ+CsA→ПО рецидив через 9 лет	6,5	95	Нб 74 г/л Гран. $0,8 \cdot 10^9$ /л Тромб. $27 \cdot 10^9$ /л Ретик. 0,9% ЛДГ 729 Ед/л Нб 78 г/л
Больная С.Е., жен/15	Сверхтяжелая ПАА/8,2	АТГ+CsA→ЧО после 2 курсов (рецидив через 3 года)	3,5	94	Гран. $1,68 \cdot 10^9$ /л Тромб. $34 \cdot 10^9$ /л Ретик. 0,4% ЛДГ 184 Ед/л Нб 78 г/л
Больная С.О., жен/22	Сверхтяжелая ПАА/14,9	АТГ+CsA→ПО/ рецидив через 1 год/АТГ→ЧО/ рецидив через 3 года/ →CsA	5,5	99	Гран. $0,8 \cdot 10^9$ /л Тромб. $143 \cdot 10^9$ /л Ретик. 0,7% ЛДГ 590 Ед/л Нб 77 г/л
Больная Ф.Ю., жен/14	Тяжелая ПАА/13	АТГ+CsA→ЧО	0,4	94	Гран. $0,75 \cdot 10^9$ /л Тромб. $106 \cdot 10^9$ /л Ретик. 0,8% ЛДГ 242 Ед/л Нб 92 г/л
Больная К.Е., жен/17	Сверхтяжелая ПАА/12,4	АТГ+CsA→ПО рецидив через 4,5 года АТГ →ЧО	4,5	75%	Гран. $0,9 \cdot 10^9$ /л Тромб. $125 \cdot 10^9$ /л Ретик. 0,2% ЛДГ 743 Ед/л

*Примечание.* CsA – циклоспорин А, ПО – полный ответ, ЧО – частичный ответ, гран. – гранулоциты, тромб. – тромбоциты, ретик. – ретикулоциты.

В качестве трансплантата использовалась полученная на 5-й день стимуляции гранулоцитарным колониестимулирующим фактором методом цитафереза мононуклеарная фракция крови донора. Продукт афереза подвергался стандартной процедуре иммуномагнитной деплеции альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-клеток на приборе CliniMACS, Miltenyi Biotec, в соответствии с рекомендацией производителя. Целевыми показателями финального трансплантата являлось число CD34+ предшественников  $> 5 \cdot 10^6$ /кг и резидуальных альфа/бета Т-лимфоцитов  $< 10^5$ /кг массы тела реципиента. Дополнительная *in vivo* деплеция пула В-лимфоцитов донора и реципиента осуществлялась введением ритуксимаба в день -1.

Торакоабдоминальное облучение проводили в режиме конформной 3D терапии на линейном ускорителе Elekta Synergy с противоположащих переднезадних полей фракциями по 2 Гр с расстоянием источник – очаг 100–125 см.

Пациенты находились в индивидуальных боксах с НЕРА-фильтрованным ламинарным потоком воздуха с 20-кратным воздухообменом со дня -10 до приживления трансплантата и наступления трансфузионной независимости. Профилактика реактивации вируса простого герпеса человека типов 1 и 2 проводилась ацикловиром в дозе 250 мг/м<sup>2</sup> 3 раза в сутки до приживления трансплантата, далее – валацикловиром 15 мг/кг 2 раза в сутки до наступления иммунореконституции. Мониторинг цитомегаловируса (ЦМВ)-виремии проводили методом полимеразной

цепной реакции (ПЦР) в плазме еженедельно, начиная с дня -7, и при выявлении ДНК вируса в титре  $> 500$  копий/мл назначали ганцикловир в дозе 5 мг/кг 2 раза в сутки внутривенно до двух последовательных отрицательных определений, но не менее 2 нед.

Профилактически препараты внутривенного иммуноглобулина (Ig) не вводились, мониторинг уровня сывороточного IgG начинался со дня +30 и проводился до достижения иммунореконституции, и при его снижении  $< 4$  г/л назначали заместительные трансфузии в дозе 400–600 мг/кг для достижения посттрансфузионного уровня  $> 6–7$  г/л.

Приживление нейтрофилов регистрировали на 1-й день из трех последовательных дней с уровнем нейтрофилов  $> 0,5 \cdot 10^9$ /л, приживление тромбоцитов – на 1-й день из трех последовательных дней с числом тромбоцитов  $> 20,0 \cdot 10^9$ /л. Химеризм в периферической крови и фракции CD3+ клеток анализировали ежемесячно до дня +180 с использованием собственной системы с применением методики ПЦР в реальном времени для обнаружения маркеров коротких tandemных повторов (КТП), затем 1 раз каждые 3 мес до дня +360. Иммунореконституцию контролировали ежемесячно методом проточной цитометрии с подсчетом основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови.

Исследование одобрено местным этическим комитетом НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева в соответствии с Хельсинкской декларацией, а пациенты и/или их законные опекуны



Таблица 2. Режим кондиционирования и лечение экулизумабом (дни)

Режим кондиционирования	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4	Пациент 5
ТАО доза, Гр	6 (-6) – (-4)	6 (-9) – (-7)	6 (-6) – (-4)	4 (-7) – (-6)	4 (-6) – (-5)
Флударабин, мг/м <sup>2</sup>	150 (-6) – (-2)	150 (-6) – (-2)	150 (-6) – (-2)	150 (-6) – (-2)	150 (-6) – (-2)
Циклофосфамид, мг/кг	100 (-5) – (-2)	100 (-5) – (-2)	100 (-5) – (-2)	100 (-5) – (-2)	100 (-5) – (-2)
Тиотепа, мг/кг				5 (-5)	5 (-5)
Серотерапия	Алемгузумаб, 1мг/ кг (-14 сут)	АТГАМ, 100 мг/кг (-5) – (-2)	АТГАМ, 100 мг/кг (-5) – (-2)	Тимоглобулин, 7,5 мг/кг (-5) – (-4)	Тимоглобулин, 5 мг/кг (-5) – (-4)
Ритуксимаб, мг/м <sup>2</sup>			200 (-1)	200 (-1)	100 (-1)
Экулизумаб	600 мг/1 раз в 7 дней (-7, 0, +7, +14)	600 мг/1 раз в 7 дней (-7, 0, +7, +14)	600 мг/1 раз в 7 дней (-7, 0, +7, +14)	600 мг/1 раз в 7 дней (-7, 0, +7, +14)	600 мг/1 раз в 7 дней (-7, 0, +7, +14)

Таблица 3. Характеристики трансплантата и режимов профилактики отторжения/РТПХ

	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4	Пациент 5
CD34(+)/кг	6,6·10 <sup>6</sup> /кг	13,5·10 <sup>6</sup> /кг	13·10 <sup>6</sup> /кг	8,1·10 <sup>6</sup> /кг	8,0·10 <sup>6</sup> /кг
А/б Т/кг	150·10 <sup>3</sup> /кг	316·10 <sup>3</sup> /кг	98·10 <sup>3</sup> /кг	44·10 <sup>3</sup> /кг	181·10 <sup>3</sup> /кг
Г/д Т/кг	7,7·10 <sup>6</sup> /кг	14,1·10 <sup>6</sup> /кг	7,3·10 <sup>6</sup> /кг	2,3·10 <sup>6</sup> /кг	1,4·10 <sup>6</sup> /кг
CD19(+)/кг	62·10 <sup>3</sup> /кг	343·10 <sup>3</sup> /кг	221·10 <sup>3</sup> /кг	232·10 <sup>3</sup> /кг	1986·10 <sup>3</sup> /кг
NK/кг	6,4·10 <sup>8</sup> /кг	13,8·10 <sup>8</sup> /кг	7,6·10 <sup>8</sup> /кг	2,4·10 <sup>8</sup> /кг	3,2·10 <sup>8</sup> /кг
Профилактика отторжения/РТПХ					
Такролимус	0,015 мг/кг/сут	0,015 мг/кг/сут	0,015 мг/кг/сут	0,015 мг/кг/сут	0,015 мг/кг/сут
Метотрексат	10 мг/м <sup>2</sup> (+1, +4, +7, +11)	5 мг/м <sup>2</sup> (+1, +3, +6)	–	–	–

Примечание. А/б Т/кг – альфа/бета Т-лимфоциты/кг, Г/д Т/кг – гамма/дельта Т-лимфоциты/кг.

предоставили информированное согласие на участие в исследовании.

## Результаты

В период с сентября 2012 г. по декабрь 2015 г. в Москве ТГСК от неродственного донора проведена 5 подросткам и молодым взрослым в возрасте 14,5–22,7 года (медиана 17,8 года) с ПНГ. У всех пациентов ПНГ являлась следствием эволюции тяжелой апластической анемии (АА) после успешного лечения АТГ + циклоспорин А (CsA) и развилась с медианой 4 года (5 мес – 6,5 лет) от проведения ИСТ. Медиана размера ПНГ-клона во фракции гранулоцитов составила 94 (75–99) % (табл. 1). В клинической картине доминировал гемолиз, у одного пациента развился тромбоз верхнего сагиттального и правого поперечного венозных синусов головного мозга, ишемия головного мозга, гемипарез, по поводу которого проведена хирургическая локальная тромбэкстракция и системный тромболитический альтеплазой с полным неврологическим восстановлением. У всех пациентов имелись признаки нетяжелой костномозговой недостаточности: гранулоциты 0,8·10<sup>9</sup>/л (0,8–

1,8·10<sup>9</sup>/л), тромбоциты 106·10<sup>9</sup>/л (27–143·10<sup>9</sup>/л), Нв –78 г/л.

Неизменной основой режима кондиционирования являлись торакоабдоминальное облучение, флударабин, циклофосфамид и ритуксимаб. Серотерапия и профилактика реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) подвергались вариациям (табл. 2).

Характеристики трансплантата и режимы профилактики РТПХ приведены в табл. 3. Медианы клеточного состава трансплантата: CD34+/кг 8,1·10<sup>6</sup>/кг, альфа/бета Т-лимфоциты/кг 150·10<sup>3</sup>/кг, гамма/дельта Т-лимфоциты/кг 7,3·10<sup>6</sup>/кг, CD19+/кг 221·10<sup>3</sup>/кг, NK/кг 6,4·10<sup>8</sup>/кг. Медиана продолжительности приема такролимуса после ТГСК составила 117 (27–365) сут.

Первичное приживление лейкоцитарного и тромбоцитарного ростков достигнуто у всех пятерых пациентов с медианой 15 (12–18) и 13 (10–18) дней соответственно, ни одного отторжения не зафиксировано. Острую РТПХ наблюдали у одного пациента – I стадия (поражение кожи 2-й степени), которая потребовала системного назначения глюкокортикостероидов с быстрым ответом и быстрой отменой терапии. Хроническая РТПХ не развилась ни у одного пациента. Реактивация ЦМВ оказалась у 1 пациента, на (-

1) сутки, проводилась упреждающая терапия фоскавиром в течение 2 нед, реактивации вируса Эпштейна – Барр (ЭБВ) и аденовируса не наблюдалось. Ни в одном случае не зарегистрировано проявлений эндотелиальной токсичности.

У всех пациентов ко дню +30 достигнут полный донорский химеризм в миелоидном ростке. При этом во фракции Т-лимфоцитов памяти (фракция CD45RO+) у пациента длительно сохранялся собственный химеризм, в то время как во фракции наивных Т-лимфоцитов (CD45RA+) химеризм был стабильно донорским с момента их появления в периферической крови.

Ни у одного пациента не развилось гемолитического криза и исчезновение ПНГ-клона документировано у всех пациентов к +60 дню (см. рисунок на цветной вклейке).

Иммунореактивация (CD 3+/4+ > 200/мкл, CD19 + > 50/мкл) оказалась замедленной и наступала с медианой 6 мес после ТГСК (от 4 до 10 мес после ТГСК), однако клинически значимых инфекций, связанных с Т-клеточным дефицитом, не отмечено.

В настоящее время все пять пациентов живы с нормальным гемопоэзом, полным количественным восстановлением показателей иммунитета, не имеют посттрансплантационных осложнений, клинически здоровы и хорошо социально адаптированы. Медиана посттрансплантационного наблюдения составляет 4 года (1,7–5,5 лет).

## Обсуждение

Наличие эффективной медикаментозной терапии может в корне изменить лечебную концепцию любого онкологического заболевания. Классическим примером является хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), при котором эффективность ингибиторов тирозинкиназы существенно превышает лучшие результаты, достигаемые с помощью аллогенной ТГСК как в среднесрочной, так и в долгосрочной перспективе. При этом аргументы сторонников тотальной трансплантации при ХМЛ продолжают опровергаться результатами многолетнего наблюдения за пациентами. Подобным образом и экулизумаб революционизировал терапию ПНГ, превратив это тяжелое заболевание с плохим прогнозом в хроническую «лабораторно выявляемую аномалию», мало влияющую на качество и продолжительность жизни. Оправданы ли дальнейшие попытки трансплантации в свете того, что долгосрочная общая выживаемость (ОВ) после трансплантации при ПНГ хуже, чем при применении экулизумаба? На наш взгляд, оправданы. Во-первых, имеющиеся данные об эффективности/опасности трансплантации у пациентов с ПНГ являются ретроспективными и включают пациентов, которым проведена трансплантация на протяжении периода длительностью в 40 лет. Соответственно серьезные усовершенствования технологии аллогенной трансплантации, особенно неродственной, произошедшие за последние 10–15 лет, пока не получили отражения в общей картине результатов трансплантации. В частности, применение режимов кондиционирования с пониженной интенсивностью на основе флударабина может значительно улучшать результаты трансплантации без применения Т-деплеции, хотя вероятность РТПХ остается существенной [14, 15]. Во-вторых, трансплантация предоставляет реальный шанс на полное и окончательное излечение в противовес патогенетической, малотравматичной, но не излечивающей, пожизненной терапии экулизумабом. Более того, часть пациентов, получающих экулизумаб, продолжают нуждаться в периодических трансфузиях. В-третьих, стоимость терапии экулизумабом

настолько и неоправданно высока (в России – в среднем 24–28 млн р. в год на пациента пожизненно!), что зачастую делает невозможным бесперебойное обеспечение и ставит под угрозу жизнь и здоровье пациентов. В-четвертых, инновационные методы изолированного инжиниринга трансплантата позволяют снизить риски неродственной трансплантации (неприживление, РТПХ, инфекции) при сохранении высокого куративного потенциала. Наконец, в-пятых, у пациентов с классической ПНГ, развившейся в результате эволюции ПАА, существует риск эволюции в МДС/острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), что резко уменьшает шансы на успешную трансплантацию.

Руководствуясь этими соображениями, мы разработали новый подход к ТГСК у молодых пациентов с ПНГ, используя деплецию альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-клеток после усиленного иммуносупрессивного кондиционирования.

Данный вид деплеции позволяет освободить трансплантат от аллореактивных Т-лимфоцитов, являющихся эффекторами РТПХ, совершенно нежелательной у пациентов с незлокачественными заболеваниями и, в частности, ПНГ, в то же время сохраняет большое количество Т-гамма/дельта- и НК-клеток. Последние, помимо того, что обладают противовирусным действием, могут предотвращать отторжение трансплантата. Таким образом, этот метод призван сохранить положительные и элиминировать отрицательные стороны метода *in vivo* Т-клеточной деплеции [16, 17].

Наш собственный опыт применения деплеции альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-клеток при злокачественных заболеваниях подтверждает высокий потенциал приживления и беспрецедентно низкую вероятность РТПХ [18].

В данном исследовании мы применили кондиционирование, состоящее из флударабина и циклофосфида, которые являются классическими иммуносупрессантами без выраженного миелосупрессивного эффекта, и торакоабдоминального облучения в дозе 4–6 Гр, которое сочетает достаточный для пациентов с ПНГ миелосупрессивный эффект (цель – освобождение «гемопоэтических ниш») с сильным иммуносупрессивным потенциалом. Дополнительная иммуносупрессия, умозрительно необходимая для мультитрансфузированных пациентов с ПНГ, получающих Т-деплецированный трансплантат, достигается серотерапией АТГ или алектумабом. При этом данное кондиционирование минимально опасно как в отношении острых осложнений, так и в отношении поздних эффектов, в частности гонадотоксичности [19].

Учитывая наличие множества факторов, которые могут спровоцировать развитие гемолитического криза во время перитрансплантационного периода – терапия АТГ, который активирует комплемент, инфекции, системное повреждение эндотелия, системный воспалительный синдром – мы инкорпорировали экулизумаб в режим терапии со дня –7 до дня +14 (1 раз в 7 дней, всего 4 раза). К этому сроку остаточные эритроциты пациента элиминируются из циркуляции и устанавливается стабильный донорский эритропоэз (см. рисунок на цветной вклейке – динамика ПНГ-клона). Соответственно, короткое применение экулизумаба позволяет безопасно пройти через критический период от начала кондиционирования до количественной нормализации гемопоэза. После этого необходимость применения препарата полностью отпадает.

Наш опыт с пятью подростками и молодыми взрослыми с гемолитической формой ПНГ показывает полную со-

стоятельность описанного подхода. Все пациенты легко прошли через перитрансплантационный период, без каких-либо признаков висцеральной токсичности, гемолиза или тромбозов. Все покинули стационар со дня +24 до дня +40 и далее наблюдались только амбулаторно, без повторных госпитализаций. У всех пациентов достигнуто стойкое приживание, без клинически значимой РТПХ и инфекций. Восстановление показателей клеточного и гуморального иммунитета отсрочено по сравнению с классическими неосложненными РТПХ неродственными ТГСК, однако это не сопровождалось поздними инфекционными осложнениями. Хотя вероятность реактивации ЦМВ-инфекции после Т-деплецированных трансплантаций повышена, лишь один пациент из пяти в нашей группе потребовал упреждающей противовирусной терапии.

Одной из важнейших проблем реципиентов аллогенных ТГСК являются поздние осложнения, которые могут стать очевидными и резко нарушать качество жизни спустя годы после успешной ТГСК. Большинство этих осложнений является следствием развития острой и хронической РТПХ и их длительного медикаментозного лечения. Об этом свидетельствует наш собственный опыт и ряд международных исследований [20–22].

Практически полная элиминация РТПХ в нашем исследовании дает очевидную надежду на то, что вероятность таких осложнений, как нарушения костного минерального обмена и поздние неинфекционные поражения легких, будет существенно снижена в сравнении с традиционными методами трансплантации. Естественно, что даже низкодозовое облучение ограниченных областей несет в себе риски поздних вторичных опухолей, поэтому необходимость внимательного «онкологического мониторинга» пациентов является очевидной.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Новичкова Г.А., Петрова У.Н., Калинина И.И., Масчан А.А. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия у детей (обзор литературы). *Доктор Ру Гематология*. 2016; 122(5):15-20. [Novichkova GA, Petrova UN, Kalinina II, Maschan AA. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria in Children: Literature Review. *Doktor Ru Gematologiya*. 2016; 122(5):15-20. (In Russ.)].
- Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, Iida Y, Endo Y, Fujita T, Takahashi M, Kitani T, Kinoshita T. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell*. 1993; 73(4):703-711. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90250-t](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90250-t)
- Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J-i, Bessler M, Ware R, Hillmen P, Luzzatto L, Young N, Kinoshita T, Rosse W, Socié G. For the International P. N. H. I. G. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005; 106(12):3699-3709. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-04-1717>
- Narita A, Muramatsu H, Okuno Y, Sekiya Y, Suzuki K, Hamada M, Kataoka S, Ichikawa D, Taniguchi R, Murakami N, Kojima D, Nishikawa E, Kawashima N, Nishio N, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Development of clinical paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in children with aplastic anaemia. *British Journal of Haematology*. 2017; 178(6):954-958. <https://doi.org/10.1111/bjh.14790>
- Timeus F, Crescenzo N, Lorenzati A, Doria A, Foglia L, Pagliano S, Quarello P, Ramenghi U, Saracco P. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in children with acquired aplastic anaemia: a prospective single centre study. *British Journal of Haematology*. 2010; 150(4):483-485. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08219.x>
- Tutelman PR, Aubert G, Milner RA, Dalal BI, Schultz KR, Deyell RJ. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria phenotype cells and leucocyte subset telomere length in childhood acquired aplastic anaemia. *British Journal of Haematology*. 2014; 164(5):717-721. <https://doi.org/10.1111/bjh.12656>
- Kulagin A, Lisukov I, Ivanova M, Golubovskaya I, Kruchkova I, Bondarenko S, Vavilov V, Stancheva N, Babenko E, Sipol A, Pronkina N, Kozlov V, Afanasyev B. Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: results of two-centre prospective study. *British Journal of Haematology*. 2014; 164(4):546-554. <https://doi.org/10.1111/bjh.12661>
- Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural History of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *New England Journal of Medicine*. 1995; 333(19):1253-1259. <https://doi.org/10.1056/nejm199511093331904>
- Socié G, Mary J.-Y, de Gramont A, Rio B, Leparrier M, Rose C, Heudier P, Rochant H, Cahn J.-Y, Gluckman E. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. *Lancet*. 1996; 348(9027):573-577. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(95\)12360-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(95)12360-1)
- Santarone S, Bacigalupo A, Risitano AM, Tagliaferri E, Di Bartolomeo E, Iori AP, Rambaldi A, Angelucci E, Spagnoli A, Papineschi F, Tamizazzo S, Di Nicola M, Di Bartolomeo P. Hematopoietic stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: long-term results of a retrospective study on behalf of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO). *Haematologica*. 2010; 95(6):983-988. <https://doi.org/10.3324/haematol.2009.017269>
- de Latour RP, Schrezenmeier H, Bacigalupo A, Blaise D, de Souza CA, Vigouroux S, Willemze R, Terriou L, Tichelli A, Mohty M, de Guibert S, Marsh JC, Passweg J, Yves Mary J, Socié G. Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica*. 2012; 97(11):1666-1673. <https://doi.org/10.3324/haematol.2012.062828>
- Попов А. М., Кашпор С.А., Вержбицкая Т.Ю., Борисов В. И., Фечина Л. Г., Плясунова С. А., Масчан А. А., Новичкова Г. А. Определение FLAER-негативных гранулоцитов в периферической крови – простой скрининг-тест для диагностики пароксизмальной

Оппоненты применения деплеции альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-клеток деплеции при неродственной трансплантации от HLA-совместимого донора ссылаются прежде всего на высокую стоимость и высокие затраты человеческих ресурсов при применении этого метода. Однако, очевидно, что стоимость лечения РТПХ III–IV клинической стадии неизмеримо выше, не говоря о страданиях и физической деградации пациентов.

Важно отметить и то, что стоимость даже такой технически сложной трансплантации (поиск и активация неродственного донора, стоимость набора для деплеции, инжиниринга трансплантата, госпитализации, лекарственных препаратов, мониторинга и т.д.) не превысила 10 млн р. на одного пациента, что практически в 3 раза меньше, чем стоимость годовой терапии экулизумабом. Излишне говорить о том, какая глобальная экономия ресурсов достигается с учетом того, в течение какого срока (40–50 лет?) молодые пациенты нуждались бы в терапии экулизумабом, не будь им выполнена ТГСК.

## Заключение

Таким образом, отметим, что выполнение ТГСК с деплецией альфа/бета Т-лимфоцитов и CD19-клеток от полностью совместимого неродственного донора после мощного иммуносупрессивного кондиционирования с минимальной органной токсичностью показало более чем обнадеживающие результаты в группе подростков и молодых взрослых с ПНГ.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

- ночной гемоглобинурии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2016; 15(3):12-18. [Popov AM, Kashpor SA, Verzhbitskaya TYu, Borisov VI, Fechina LG, Plyasunova SA, Maschan AA, Novichkova GA. FLAER-negative granulocytes detection in peripheral blood is simple and highly reproducible test for pnh screening. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2016; 15(3):12-18. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.20953/1726-1708-2016-3-12-18>
13. Наумова Е.В., Почтарь М.Е., Кисиличина Д.Г., Плеханова О.С., Сипол А.А., Бабенко Е.В. и др. Стандартизация диагностики пароксизмальной ночной гемоглобинурии с помощью проточной цитометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 61(7):54-58. [Namova VE, Potchtar ME, Kisilichina DG, Plekhanova OS, Sipol AA, Babenko EV, Boyakova EV, Glazanova TV, Tchubukina JV, Pronkina NV, Popov AM, Saveliyev LI, Borisov VI, Lugovskaya SA. The standardization of diagnostic of paroxysmal nighthemoglobinuria using flowcytometry. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 61(7):54-58. (In Russ.)].
  14. Pantin J, Tian X, Geller N, Ramos C, Cook L, Cho E, Scheinberg P, Vasu S, Khuu H, Stroncek D, Barrett J, Young NS, Donohue T, Childs RW. Long-term outcome of fludarabine-based reduced intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation for debilitating paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2014; 20(9):1435-1439. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.05.012>
  15. Vallet N, de Fontbrune FS, Loschi M, Desmier D, Villate A, Barraco F, Chevallier P, Terriou L, Yakoub-Agha I, Ruggeri A, Mohty M, Mailard N, Rohrlich P-S, Ceballos P, Nguyen S, Poiré X, Guillemin G, Tabrizi R, Farhi J, Devillier R, Rubio M-T, Socié G, de Latour RP. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria previously treated with eculizumab: a retrospective study of 21 patients from SFGM-TC centers. *Haematologica*. 2018; 103(3):e103-e105. <https://doi.org/10.3324/haematol.2017.182360>
  16. Murphy WJ, Bennett M, Kumar V, Longo DL. Donor-type activated natural killer cells promote marrow engraftment and B cell development during allogeneic bone marrow transplantation. *The Journal of Immunology*. 1992; 148(9):2953-2960.
  17. Alvarez M, Sun K, Murphy WJ. Mouse host unlicensed NK cells promote donor allogeneic bone marrow engraftment. *Blood*. 2016; 127(9):1202-1205. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-08-665570>
  18. Maschan M, Shelikhova L, Ilushina M, Kurnikova E, Boyakova E, Balashov D, Persiantseva M, Skvortsova Y, Laberko A, Muzalevskiy Y, Kazachenok A, Glushkova S, Bobrynya V, Kalinina V, Olshanskaya Y, Baidildina D, Novichkova G, Maschan A. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplantation*. 2016; 51:668. <https://doi.org/10.1038/bmt.2015.343>
  19. Sanders J, Hawley J, Levy W, Gooley T, Buckner C, Deeg H, Doney K, Storb R, Sullivan K, Witherspoon R, Appelbaum F. Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Blood*. 1996; 87(7):3045-3052. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(92\)90909-2](https://doi.org/10.1016/0360-3016(92)90909-2)
  20. Скворцова Ю.В., Руднева А.Е., Делягин В.М., Лерхендорф Ю.А., Терещенко Г.В., Балашов Д.Н., Масчан М.А., Масчан А.А. Поздние неинфекционные поражения легких у детей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Онкогематология*. 2015; 10(1):29-36. [Skvortsova YV, Rudneva AE, Delyagin VM, Lerkhendorf YA, Tereshchenko GV, Balashov DN, Maschan MA, Maschan AA. Late non-infectious lung damage in children after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. *Oncohematology*. 2015; 10(1):29-36. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2015-1-29-36>
  21. Скворцова Ю.В., Балашов Д.Н., Skorobogatova E.B., Шеховцова Ж.Б., Воронин К.А., Масчан А.А. Нарушение минерализации костей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей: одноцентровое когортное исследование. *Педиатрическая фармакология*. 2017; 14(6):459-468. [Skvortsova YV, Balashov DN, Skorobogatova EV, Shekhovtsova ZB, Voronin KA, Maschan AA. Bone Mineral Turnover after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children: A Single Center Cohort Study. *Pediatric pharmacology*. 2017; 14(6):459-468. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.15690/pf.v14i6.1829>
  22. Скворцова Ю.В., Балашов Д.Н., Масчан А.А. Остеопения и остеопороз после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, особенности нарушений костного минерального обмена у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2017; 16(4):98-106. [Skvortsova YuV, Balashov DN, Maschan AA. Osteopenia and osteoporosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, features of bone mineral turnover pathology in children. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2017; 16(4):98-106. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24287/1726-1708-2017-16-4-98-106>

Поступила 16.03.2018