

# Герпес-вирусные инфекции у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с TCR $\alpha\beta$ и CD19 деплецией: факторы риска и прогноз

А.А. Богоявленская, А.Л. Лаберко, Л.Н. Шелихова, Ж.Б. Шеховцова, Д.Н. Балашов, К.А. Воронин, Е.Е. Курникова, Е.В. Боякова, Е.В. Райкина, В.В. Бриллиантова, Р.П. Пирумова, М.А. Масчан

ФГБУ «Национальный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

## Контактная информация:

Богоявленская Анна Александровна, врач-гематолог отделения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток №1 Национального научно-практического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.  
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1  
Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 7537  
E-mail: analecs@gmail.com

В данной работе исследованы распространенность и клиническое значение герпес-вирусных инфекций – цитомегаловирусной (ЦМВ) и Эпштейн–Барр-вирусной (ЭБВ) – у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) с TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплецией трансплантата. При использовании данного метода в трансплантате остаются преимущественно неаллореактивные TCRgd лимфоциты, что снижает риск развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) при сохранении потенциала контроля вирусных инфекций. Проанализированы результаты 182 ТГСК от гаплоидентичных и неродственных доноров у пациентов в возрасте до 23 лет со злокачественными и незлокачественными заболеваниями. Кумулятивная вероятность (КВ) возникновения ЦМВ-инфекции составила 51% (95% ДИ 44–60). В моно- и мультивариантных анализах получено значимое влияние на риск ЦМВ-виремии, предшествующей острой РТПХ > II стадии, серопозитивности реципиента до ТГСК и наличия у пациента злокачественного заболевания. КВ ЭБВ-инфекции – 33% (95% ДИ 26–42). Фактором риска ЭБВ-виремии являлась острая РТПХ > II стадии. Манифестация ЦМВ болезни отмечена у 11 (6%) пациентов, ЭБВ-ассоциированной посттрансплантационной болезни (ПТЛБ) – у 1 (0,5%). Развитие ЦМВ и ЭБВ-виремии не приводит к снижению показателей выживаемости после ТГСК. TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплеция трансплантата ассоциированы со значимой частотой развития ЦМВ-виремии, не влияющей на выживаемость и трансплантатассоциированную смертность пациентов после аллоТГСК, и минимальным риском развития ПТЛБ.

**Ключевые слова:** герпес-вирусные инфекции, TCR $\alpha\beta$ -деплеция, аллогенная ТГСК.

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-1-10-21

## Herpesvirus infection following allogenic hematopoietic stem cell transplantation with TCR $\alpha\beta$ and CD19 depletion: risk factors and outcome

A.A. Bogoyavlenskaya, A.L. Laberko, L.N. Shelikhova, Z.B. Shekhovtsova, D.N. Balashov, K.A. Voronin, E.E. Kurnikova, E.V. Boyakova, E.V. Raykina, V.V. Brilliantova, R.P. Pirumova, M.A. Maschan

National Research Practice Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology named after Dmitry Rogachev, Moscow, Russian Federation

## Correspondence:

Anna A. Bogoyavlenskaya, MD, hematologist, Department of hematopoietic stem cell Transfusion, National Research Practice Center of Pediatric, Oncology, and Immunology named after Dmitry Rogachev.  
Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1  
Tel.: +7 (495) 287-6570, ext. 7537  
E-mail: analecs@gmail.com

In this study we evaluated incidence and risk factors of Herpesvirus infections – Cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr (EBV) – in recipients of allogenic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT) with TCR $\alpha\beta$  and CD19 depletion of graft. The usage of this method results to graft preservation of non-alloreactive TCRgd lymphocytes, leading to decreased risks of graft versus host disease (GVHD) with adequate antiviral control. We estimated the outcomes of 182 HSCT from haploidentical and unrelated donors in patients younger than 23 years old with malignant and nonmalignant disorders. The cumulative incidence (Cum Inc) of CMV infection was 51% (95% CI 44–60). By uni- and multivariate analyzes was found the significant influence on CMV-viremia of acute GVHD grade 2–4, recipient's seropositivity before HSCT and patient's malignant disorder. Cum Inc of EBV infection was 33% (95% CI 26–42). The risk factor of EBV viremia was acute GVHD grade 2–4. The incidence of CMV-disease was 6% (11 patients), EBV-related posttransplant lymphoproliferative disorder (PTLD) 0,5% (1 patient). CMV and EBV viremia did not decrease survival after HSCT.

TCR $\alpha\beta$  and CD19 depletion of graft was associated with significant risk of CMV viremia in patients after alloHSCT, but did not influence survival and transplant related mortality, and with extremely low risk of PTLD development.

**Key words:** herpesvirus (CMV, EBV), TCR $\alpha\beta$  depletion, allogenic stem cell transplantation.

Метод TCR $\alpha\beta$  и CD19-деплеции разработан для улучшения результатов гаплоидентичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в первую очередь с целью профилактики тяжелой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и трансплантационной смертности (TRM, *transplant-related mortality*). Ранние клинические результаты показали, что применение данного типа трансплантации характеризуется высоким уровнем приживления, быстрой реконституцией иммунитета и хорошим контролем РТПХ [1–3]. Исторически глубокая деплеция Т-лимфоцитов была ассоциирована с продленным иммунодефицитом и высокой частотой вирусных инфекций. Трансплантация у пациентов старшего возраста с полным удалением из трансплантата зрелых Т-лимфоцитов связана с высокой TRM преимущественно за счет вирусных осложнений, включая цитомегаловирусную (ЦМВ) и Эпштейн–Барр-вирусную (ЭБВ) инфекции.

На сегодняшний день цитомегаловирус остается главным патогенным микроорганизмом, оказывающим существенное влияние на клинические, биологические и экономические аспекты ТГСК [4–10]. Определены наиболее значимые факторы риска ЦМВ-инфекции/болезни: серологический статус донора/реципиента, развитие реакции «трансплантат против хозяина», использование различных типов антилимфоцитарных антител, Т-клеточная деплеция *ex vivo*, трансплантация от неродственного или не полностью совместимого донора [6, 11–14]. Несмотря на то, что в большинстве исследований развитие ЦМВ-инфекции после ТГСК – это прогностически неблагоприятный фактор в отношении выживаемости, в ряде современных работ показана возможная роль ЦМВ в протекции против рецидива лейкоза [15–19].

Эпштейн–Барр вирус связан с развитием жизнеугрожающего состояния – посттрансплантационного лимфопролиферативного синдрома/болезни (ПТЛС) [20]. В основе развития данного феномена лежит ослабление контроля Т-клеток над латентно инфицированными ЭБВ В-лимфоцитами, которое наиболее выражено при полной Т-деплеции *in vivo* или *ex vivo* [21, 22].

Качественный состав трансплантата после TCR $\alpha\beta$  деплеции обогащен НК-клетками (натуральными киллерами) и  $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами [23, 24]. Данные популяции лимфоцитов обладают выраженным противовирусным эффектом, что потенциально может способствовать улучшению контроля вирусных инфекций на ранних сроках после ТГСК [25–29]. Дополнительно, в целях уменьшения риска реактивации ЭБВ-инфекции, выполняют деплецию В-лимфоцитов из трансплантата с помощью анти-CD19 реагента. В настоящее время данные, характеризующие течение основных вирусных инфекций после ТГСК

с применением TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплетированного трансплантата, ограничены.

С 2012 года на базе ФГБУ «ННПЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» пациентам проводится аллогенная ТГСК от гаплоидентичного или HLA-совместимого неродственного донора с проведением TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплеции трансплантатов. В настоящей работе отражены результаты ретроспективного анализа в целях изучения частотных характеристик, факторов рисков и последствий течения ЦМВ и ЭБВ-инфекций у пациентов, получивших аллогенную ТГСК с TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплецией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализированы данные 182 пациентов, которым проведена первая аллогенная ТГСК с TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплецией за период с мая 2012 по декабрь 2014 года. В исследование включены пациенты с острым лейкозом (n=91), другими злокачественными заболеваниями крови (n=23), синдромами недостаточности костного мозга (n=35), первичными иммунодефицитами (ПИД) (n=32) и бета-талассемией (n=1). Характеристика пациентов, статус ремиссии больных с лейкозом и типы первичных иммунодефицитов представлены в таблице 1.

**Обработка трансплантата.** Трансплантат у всех исследуемых пациентов представлен мобилизованными стволовыми клетками периферической крови. TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплецию выполняли путем иммуномагнитной сортировки клеток на приборе *CliniMACS Plus* в соответствии с рекомендациями производителя (*Miltenyi Biotec*, Бергш-Гладбах, Германия). Медиана дозы клеток в трансплантате составила для нуклеарных клеток 6,9 (1,3–72)×10<sup>8</sup>/кг; для CD34+ клеток – 10 (1–21)×10<sup>6</sup>/кг; для альфа/бета Т-лимфоцитов – 17 (0,6–364)×10<sup>3</sup>/кг и для В-лимфоцитов – 55 (2–5000)×10<sup>3</sup>/кг.

**Режимы кондиционирования и профилактики РТПХ.** Режимы кондиционирования у пациентов со злокачественными заболеваниями и бета-талассемией включали следующие препараты: флударабин – 150 мг/м<sup>2</sup>, треосульфат – 36–42 г/м<sup>2</sup> и мельфалан – 140 мг/м<sup>2</sup>. Трое пациентов с острым лимфобластным лейкозом получили кондиционирование в составе фракционного тотального облучения тела в суммарной дозе 12 Гр, этопозид – 60 мг/кг и флударабин – 150 мг/м<sup>2</sup>. Пациенты с первичными иммунодефицитами (n=25) в составе кондиционирования получали флударабин – 150 мг/м<sup>2</sup>, треосульфат – 36–42 г/м<sup>2</sup>; у семи пациентов дополнительно использован мельфалан в дозе 140 мг/м<sup>2</sup>. Пациенты с тяжелой апластической анемией и синдромами врожденной кост-

Таблица 1

Основные характеристики донора и реципиента

Возраст на момент трансплантации, лет	
0-7,5	98 (53,8%)
7,5-15	54 (29,7%)
15-23	30 (16,5%)
Медиана (диапазон)	6,4 (0,24–23,01)
Пол реципиента	
Мужской	124 (68,1%)
Женский	58 (31,9%)
Тип донора	
Неродственный	124 (68,1%)
Гаплоидентичный	58 (31,9%)
Инициальный диагноз*	
Злокачественный	114 (62,6%)
Незлокачественный	68 (37,4%)
ЦМВ-серостатус донор/реципиент <sup>^</sup>	
Д+/P-	13 (7,1%)
Д-/P-	17 (9,3%)
Д+/P+	77 (42,3%)
Д-/P+	51 (28%)
Неизвестен	24 (13,3%)
ЭБВ-серостатус донор/реципиент <sup>^</sup>	
Д+/P-	16 (8,8%)
Д-/P-	2 (1,1%)
Д+/P+	111 (61%)
Д-/P+	17 (9,3%)
Неизвестен	36 (19,8%)

\* Злокачественные заболевания: 46 – острый лимфобластный лейкоз, 45 – острый миелоидный лейкоз, 9 – ювенильный миелоцитарный лейкоз, 9 – неходжкинская лимфома, 5 – миелодиспластический синдром.

Незлокачественные заболевания: 26 – тяжелая приобретенная апластическая анемия, 9 – врожденная костномозговая недостаточность, 1 – бета-талассемия, 32 – первичный иммунодефицит (тяжелая врожденная нейтропения – 2, синдром Вискотта–Олдрича – 9, тяжелая комбинированная иммунная недостаточность – 5, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз – 5, гипер IgM синдром (недостаточность CD40 лиганда) – 3, хроническая гранулематозная болезнь – 2, синдром Мак-Кьюсика – 1, IPЕХ синдром (х-сцепленный синдром дисрегуляции, полиэндокринопатии, энтеропатии) – 1, WHIM-синдром (бородавки, гипогаммаглобулинемия, инфекции, миелокахекия) – 1, синдром Ниймеген – 2, недостаточность STAT1 – 1, неустановленный ПИД – 2).

<sup>^</sup> Неизвестны: ЦМВ-серостатусы – у одной пары донор-реципиент, ЭБВ-серостатусы – у 13 пар; 23 пациента с комбинированным ПИД исключены из анализа в связи с сомнительным серостатусом.

но-мозговой недостаточности (n=30) получали флударабин – 150 мг/м<sup>2</sup>, циклофосфамид – 50–100 мг/кг и торакабдоминальное облучение в дозе 6 Гр (при врожденных формах – 4 Гр). Трое пациентов с

анемией Фанкони и синдромом Ниймеген получили бусульфан – 4 мг/кг, флударабин – 150 мг/м<sup>2</sup> и циклофосфамид – 40 мг/кг.

Серотерапия была представлена кроличьим антиtimoцитарным иммуноглобулином (Тимоглобулин, *Genzyme*) в дозе 5 мг/кг (n=58) или лошадиным антиtimoцитарным иммуноглобулином (АТГАМ, *Pfizer*) – 100 мг/кг (n=115). Восемь пациентов получили алемтузумаб (*Campath, Genzyme*) – 1 мг/кг. Один пациент с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью не получил серотерапию.

Режим профилактики РТПХ варьировал в зависимости от диагноза, типа донора и дозы альфа/бета ( $\alpha\beta$ ) Т-лимфоцитов в трансплантате. Режимы у пациентов с незлокачественными и у части пациентов со злокачественными заболеваниями включали: такролимус – с 1-го по +30-й день как монотерапия (n=27) или с дополнением в виде метотрексата – 5 мг/м<sup>2</sup> на +1-й, +3-й, +6-й дни (n=83). С января 2014 года у пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) в качестве иммуносупрессивной терапии применялся бортезомиб – 1,3 мг/м<sup>2</sup> на -5-й, -2-й, +2-й и +5-й дни без дополнительных компонентов (n=16). У 23 пациентов использованы альтернативные компоненты терапии (циклоспорин А, абатацепт, микофенолата мофетил). У 33 пациентов посттрансплантационную профилактику РТПХ не проводили.

С января 2014 года в целях снижения риска развития ПТЛС, РТПХ и дополнительной деплеции как донорских, так и реципиентских В-лимфоцитов, 58 пациентов получали препарат ритуксимаб (100 мг/м<sup>2</sup>) на -1-й день. У 41 из этих пациентов в качестве серо-профилактики применяли кроличий антиtimoцитарный иммуноглобулин.

Оценку химеризма в выделенной методом иммуномагнитного сортирования фракции CD3+ проводили ежемесячно с помощью коротких tandemных повторов (STR) из костного мозга (для злокачественных) и периферической крови (для незлокачественных заболеваний). Определение тяжести острой РТПХ выполняли согласно Сиэтлским критериям острой РТПХ [30] донорского ВВИГ до ТГСК.

**Идентификация, контроль и терапия вирусной инфекции.** Критерием идентификации ЦМВ или ЭБВ-виремии было обнаружение вирусной ДНК в количестве более 500 копий/мл сыворотки крови. Повторное выявление виремии после двукратного, с интервалом в одну неделю, отрицательного результата интерпретировали как эпизод реактивации. ЦМВ или ЭБВ-болезнь считали наличие висцеральных поражений с определением методом ПЦР или иммуногистохимическим методом соответствующего вируса в биологических субстратах. В качестве профилактики вирусных инфекций с +1-го дня после ТГСК пациен-

там проводили терапию ацикловиром. Профилактическое применение фоскарнета, ганцикловира и валганцикловира не проводили даже при ЦМВ-негативности донора и позитивности пациента. Вирусный мониторинг ЦМВ и ЭБВ-виремии осуществляли еженедельно методом ПЦР до +100-го дня после ТГСК; после +100-го дня – индивидуально в зависимости от проводимой иммуносупрессивной терапии, анамнеза реактиваций вирусной и восстановления иммунитета.

После первичного определения ЦМВ-виремии пациенту проводили терапию ганцикловиром – 10 мг/кг/сут. или фоскарнетом (при выраженной цитопении) – 180 мг/кг/сут. Критерием отмены терапии у пациентов был двукратный (с интервалом в одну неделю) отрицательный результат ПЦР-теста в сыворотке крови. Также рутинно проводили терапию внутривенным иммуноглобулином (ВВИГ) для поддержания общего IgG в сыворотке крови более 5 г/л. Одному пациенту провели инфузию ЦМВ-специфических донорских лимфоцитов с целью терапии ЦМВ-болезни. Ритуксимаб использовали с превентивной целью при детекции ЭБВ-виремии более 10000 копий/мл, а также при клинических проявлениях лимфопролиферативного синдрома или мононуклеоза. Для заместительных трансфузий использовали облученные компоненты крови. Серологический статус доноров крови в отношении ЦМВ и ЭБВ не определяли. В данном исследовании серологический статус пациентов с первичными комбинированными иммунодефицитными состояниями определяли как «неуточненный» ввиду дефицита синтеза специфических иммуноглобулинов и неоднократных инфузий ВВИГ.

**Статистический анализ.** Представленный анализ является ретроспективным. В качестве потенциальных факторов риска оценивали: возраст, пол, тип донора; ЦМВ и ЭБВ-серостатус донора и реципиента; диагноз (злокачественное/незлокачественное заболевание), дозу  $\alpha\beta$ T-лимфоцитов, посттрансплантационную фармакологическую профилактику РТПХ, серотерапию (лошадиный или кроличий АТГ), клинически значимую острую РТПХ II–IV стадий. В отношении Эпштейн–Барр вируса дополнительно исследовали влияние на исходы ТГСК дозы В-лимфоцитов в трансплантате и применения ритуксимаба в составе кондиционирования. Статистический анализ выполнен с использованием программного обеспечения XLSTAT 2015 (Addinsoft, Париж, Франция). Кумулятивная частота вирусной реинфекции рассчитана с учетом анализа конкурирующих рисков (рецидив и смерть). Метод кумулятивного риска использовали также для анализа трансплантационно-ассоциированной смертности (TRM), при этом рецидив был конкурирующим событием. Вероятность общей выживаемости (ОВ) оценивали методом Каплан–Майера.

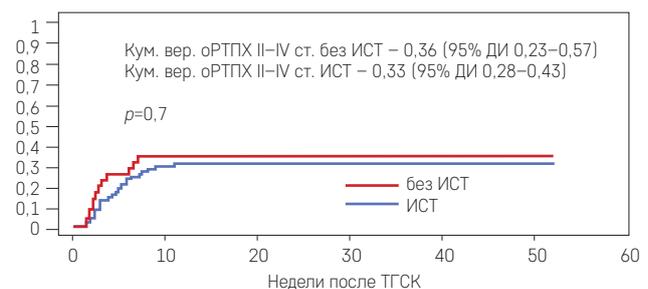
Выжившие пациенты цензурированы в октябре 2015 года. При однофакторном анализе использован двусторонний логарифмический ранговый критерий. Для сравнения абсолютного числа лимфоцитов применяли тест Манн–Уитни. Для оценки разницы между кумулятивными рисками событий использовали модели *Fine and Gray* (*R version 0.98.1103* – © 2009–2014 *R Studio, Inc*). Клинически значимые и статистически значимые факторы при одновариантном анализе были включены в многофакторный анализ. Все пациенты и/или их законные представители подписали информированное согласие на участие в данном исследовании.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Общие результаты трансплантации.** Медиана наблюдения составила 27 месяцев. Общая двухлетняя выживаемость всей группы пациентов – 68% (95%-й доверительный интервал – ДИ 61–75). При злокачественных заболеваниях ОВ – 58% (95% ДИ 48–67). Двухлетняя кумулятивная вероятность рецидива – 37% (95% ДИ 29–48); TRM – 13% (95% ДИ 8–21). При незлокачественных заболеваниях общая двухлетняя выживаемость составила 87% (95% ДИ 79–95). Кумулятивная вероятность клинически значимой (стадия  $\geq$  II) острой РТПХ – 40% (95% ДИ 31–46) для злокачественных и 27% (95% ДИ 18–40) – для незлокачественных заболеваний. Проведенная посттрансплантационная фармакологическая терапия и

### Рисунок 1 А

Кумулятивная вероятность острой РТПХ у пациентов, которым проводили (ИСТ, n=149) и не проводили (без ИСТ, n=33) посттрансплантационную профилактику РТПХ



### Рисунок 1 Б

Кумулятивная вероятность острой РТПХ у пациентов с низкой (ниже медианы) и высокой (выше медианы) дозой  $\alpha\beta$ T-лимфоцитов в трансплантате

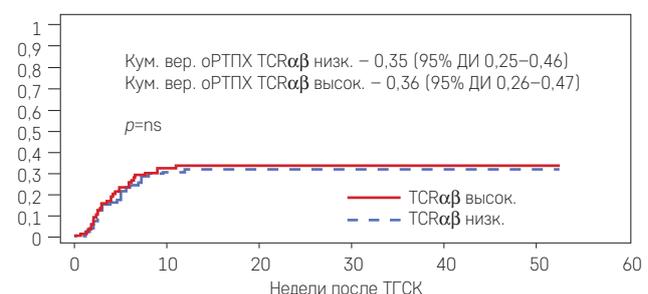


Таблица 2

Моновариантный анализ факторов риска ЦМВ и ЭБВ-виремии

Фактор риска		ЦМВ			ЭБВ		
		Кум. вероят., %	95% ДИ	<i>p</i>	Кум. вероят., %	95% ДИ	<i>p</i>
Пол	Мужской ( <i>n</i> =124)	0,54	0,45–0,64	0,36	0,3	0,22–0,42	0,55
	Женский ( <i>n</i> =58)	0,46	0,35–0,62		0,37	0,25–0,55	
Возраст, лет*	0–7,5 ( <i>n</i> =98)	0,42	0,33–0,53	0,136	0,27	0,18–0,38	0,59
	7,5–15 ( <i>n</i> =54)	0,6	0,48–0,75		0,38	0,24–0,58	
	15–23 ( <i>n</i> =30)	0,66	0,47–0,92		0,4	0,25–0,67	
Диагноз	Злокачественный ( <i>n</i> =114)	0,58	0,49–0,69	0,028	0,34	0,26–0,46	0,49
	Незлокачественный ( <i>n</i> =68)	0,39	0,29–0,53		0,3	0,19–0,47	
Тип донора	Неродств. ( <i>n</i> =124)	0,51	0,43–0,61	0,86	0,34	0,25–0,47	0,76
	Гапло ( <i>n</i> =58)	0,51	0,38–0,69		0,3	0,19–0,48	
РТПХ	Да ( <i>n</i> =67)	0,67	0,56–0,8	0,003	0,43	0,31–0,58	0,02
	Нет ( <i>n</i> =115)	0,4	0,32–0,5		0,27	0,18–0,4	
Серотерапия	АТГАМ ( <i>n</i> =115)	0,49	0,38–0,65	0,59	0,38	0,29–0,5	0,067
	Тимоглобулин ( <i>n</i> =58)	0,51	0,43–0,65		0,19	0,1–0,37	
Серостатус донора/реципиента*	Д+/Р+	0,56	0,44–0,72	0,23	0,36	0,27–0,49	0,3
	Д+/Р-	0,3	0,14–0,7		0,49	0,25–0,96	
	Д-/Р+	0,59	0,47–0,74	0,07	0,46	0,25–0,85	0,26
	Д-/Р-	0,27	0,12–0,63		0		
	Неизвестен	0,52	0,29–0,7	0,73	0,3	0,18–0,5	0,97
Реципиентский Т-клеточный химеризм**	> медианы ( <i>n</i> =87)	0,45	0,34–0,58	0,09	0,32	0,21–0,47	0,41
	< медианы ( <i>n</i> =87)	0,58	48–70		0,35	0,25–0,48	
Доза αβТ-клеток в трансплантате	< медианы ( <i>n</i> =91)	54	43–68	0,6	30	21–43	0,7
	> медианы ( <i>n</i> =91)	48	39–60		35	24–49	
Профилактика РТПХ после ТГСК	Да ( <i>n</i> =149)	51	43–61	0,22	34	26–45	0,45
	Нет ( <i>n</i> =33)	52	37–72		26	15–47	
Ритуксимаб	Да ( <i>n</i> =58)	–	–	–	0,24	0,13–0,45	0,12
	Нет ( <i>n</i> =124)	–	–		0,36	0,28–0,48	
Доза В-клеток	> медианы ( <i>n</i> =91)	–	–	–	0,30	0,20–0,45	0,30
	< медианы ( <i>n</i> =91)	–	–		0,36	0,26–0,49	

\* Серостатус донора/реципиента указан в таблице 1.

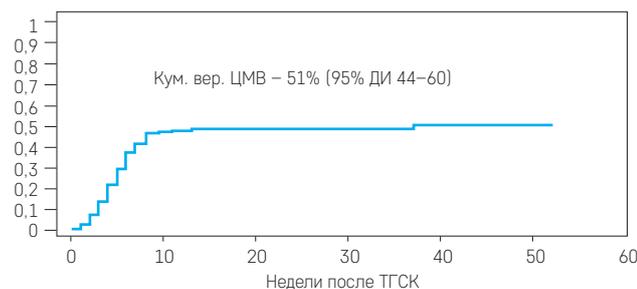
\*\* Данные химеризма доступны для 174 человек.

доза альфа/бета Т-лимфоцитов не оказали влияния на развитие острой РТПХ (соответственно 33 против 36% и 35 против 36%) (см. рис. 1 А, Б).

**Цитомегаловирусная инфекция.** Кумулятивная однолетняя вероятность ЦМВ-виремии после ТГСК составила 51% (95% ДИ 44–60) (рис. 2). Медиана времени возникновения ЦМВ-виремии – 5-я неделя после ТГСК (от 1 до 37 нед.); медиана продолжительности виремии – 3 нед. (от 1 до 12 нед.); медиана количества реактиваций – 1 (от 1 до 7). В моновариантном анализе кумулятивная вероятность возникновения ЦМВ-виремии не зависела от пола, типа донора, типа серотерапии, дозы альфа/бета Т-лимфоцитов и посттрансплантационной профилактики РТПХ (табл. 2, рис. 3). Отмечена тенденция к относительно более низкой частоте ЦМВ-виремии у пациентов с собственным реципиентским химеризмом во фракции Т-лимфоцитов выше медианы – 42% (95% ДИ 34–58) против 58% (95% ДИ 48–70) соответственно ( $p=0,09$ ; табл. 2).

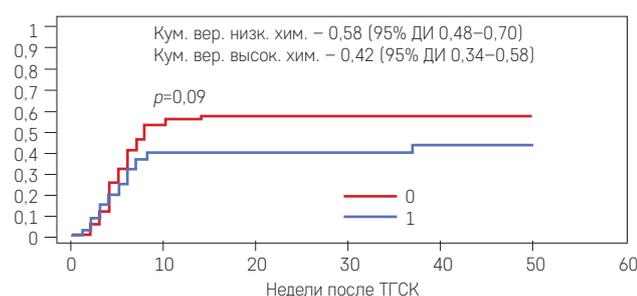
**Рисунок 2**

Кумулятивная вероятность ЦМВ-виремии у пациентов после TCR $\alpha\beta$ /CD19 деплеции



**Рисунок 3**

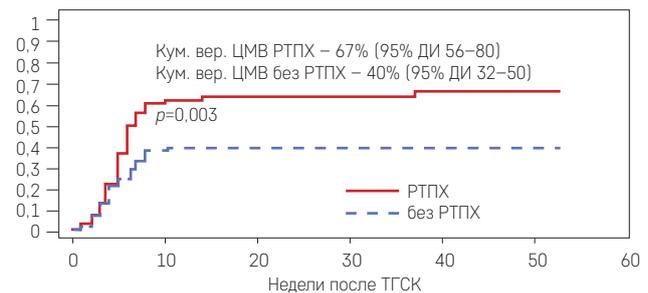
Кумулятивная вероятность ЦМВ-виремии у пациентов с реципиентским Т-клеточным химеризмом выше (1) и ниже (0) медианы



В моновариантном анализе выделены два фактора, достоверно связанные с повышением кумулятивной вероятности ЦМВ-реактивации: острая РТПХ II–IV стадии ( $p=0,003$ ; рис. 4А) и основной диагноз (злокачественное или незлокачественное заболевание) ( $p=0,03$ ; рис. 4Б). Отмечен более низкий уровень ЦМВ-виремии у пациентов младшего возраста ( $p=0,136$ ). В мультивариантном анализе подтверждена значимость острой РТПХ и основного заболевания, а старший возраст косвенно связан с высоким риском ЦМВ-виремии: HR – 1,037 в год (95% ДИ 1,002–1,07;  $p=0,04$ ; табл. 3).

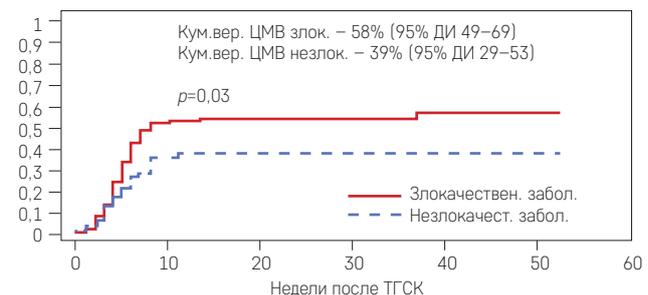
**Рисунок 4 А**

Кумулятивная вероятность ЦМВ-виремии у пациентов, имевших и не имевших острую РТПХ II–IV стадии



**Рисунок 4 Б**

Кумулятивная вероятность ЦМВ-виремии у пациентов со злокачественными и незлокачественными заболеваниями



Как в моно-, так и в мультивариантном анализе кумулятивная вероятность ЦМВ-виремии выше в группах пациентов с ЦМВ-серопозитивным статусом. В мультивариантном анализе коэффициент риска ЦМВ-виремии после ТГСК был значительно выше у пациентов с неизвестным серологическим статусом реципиента (см. табл. 3). Медиана продолжительности ЦМВ-реактивации у пациентов с ЦМВ-серопозитивными донорами составила 3 недели, у пациентов с серонегативными донорами – 4 недели ( $p=0,303$ ). Медиана количества ЦМВ-реактиваций у пациентов с ЦМВ-серонегативными донорами равна 1, у пациентов с ЦМВ-серопозитивными донорами – 0 ( $p=0,186$ ).

Среди 182 пациентов у 11 зафиксировано развитие ЦМВ-болезни со следующей локализацией: пневмония, энцефалит и хориоретинит (1 пациент), цистит и колит (1 пациент), энцефалит и ретинит (2 пациента), пневмония, энцефалит и колит (1 пациент), пневмония (3 пациента), ретинит (3 пациента). ЦМВ-болезнь развилась у 4 пациентов со злокачественным диагнозом и у 7 – с незлокачественным. Трем пациентам с ЦМВ-болезнью проведена трансплантация от гаплоидентичного донора; 8 пациентам – от неродственного донора. У 8 (72%) пациентов с ЦМВ-болезнью отмечено развитие острой РТПХ II стадии, потребовавшей применения системной глюкокортикоидной терапии. Пять пациентов с ЦМВ-болезнью умерли – во всех случаях ЦМВ-болезнь напрямую внесла вклад в танатогенез.

У пациентов нашей группы ЦМВ-виремия не повлияла на результаты выживаемости: ОВ у пациен-

**Таблица 3**

Мультивариантный анализ факторов риска ЦМВ и ЭБВ-виремии

Фактор риска	ЦМВ			ЭБВ		
	ВР	95% ДИ	<i>p</i>	ВР	95% ДИ	<i>p</i>
Мужской пол	0,352	0,865–2,11	0,19	0,97	0,51–1,85	0,92
Возраст на момент ТГСК, лет	1,037	1,002–1,07	0,04	1,026	0,97–1,08	0,36
Злокачественное заболевание	1,687	1,027–2,77	0,039	1,19	0,59–2,41	0,63
Неродственный донор	1,085	0,662–1,78	0,75	1,13	0,6–2,1	0,71
РТПХ	1,141	1,061–1,23	0,005	1,97	1,04–3,72	0,037
АТГАМ	0,942	0,368–2,41	0,9	2,47	0,95–6,38	0,063
Тимоглобулин	1,219	0,467–3,18	0,69	1,219	0,467–3,18	0,69
Ритуксимаб				1,12	0,43–2,86	0,82
Серостатус донора/реципиента			0,041			0,059
Д+/Р+	2,569	1,181–15,25	0,073	Реф.		
Д+/Р-	1,309	0,348–4,92	0,88	2,85	1,12–7,28	0,028
Д-/Р+	3,739	1,282–10,91	0,016	0,32	0,05–2,0	0,22
Д-/Р-	Реф.					
Неизвестен	4,245	0,975–10,77	0,027	1,23	0,53–2,9	0,63

**Таблица 4**Восстановление TCR $\gamma\delta$  клеток после ТГСК с TCR $\alpha\beta$ /CD19 деплецией

Дни после ТГСК	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+300	+360
$\gamma\delta$ Т клетки $\times 10^9$ /л медиана (диапазон) с ЦМВ-виремией	0,02 (0–1,8)	0,03 (0–0,5)	0,04 (0–0,73)	0,08 (0–1,4)	0,16 (0–2,5)	0,10 (0–1,8)	0,145 (0–1,6)	0,190 (0–2,6)	0,17 (0–2,5)	–
$\gamma\delta$ Т клетки $\times 10^9$ /л медиана (диапазон) без ЦМВ-виремии	0,026 (0–0,5)	0,022 (0–0,31)	0,03 (0–0,47)	0,03 (0–0,31)	0,05 (0–0,21)	0,04 (0–0,37)	0,04 (0–0,24)	0,05 (0–0,37)	0,06 (0–0,32)	0,07 (0–2,61)
Манн-Уитни, <i>p</i>	0,871	0,189	0,369	0,012	0,0005	0,005	0,001	0,005	0,012	0,008

тов с ЦМВ-виремией – 66% (95% ДИ 54–77), у пациентов без нее – 64% (95% ДИ 53–75) ( $p=0,76$ ); ОВ в подгруппе пациентов с ЦМВ-болезнью – 55% (95% ДИ 25–84), а у пациентов с ЦМВ-виремией, но без развития ЦМВ-болезни – 65% (95% ДИ 54–77) ( $p=0,22$ ).

Не прослежено достоверных различий трансплантационной смертности в группе пациентов с ЦМВ-виремией: TRM – 15% (95% ДИ 9–24), без TRM – 10% (95% ДИ 5–18;  $p=0,34$ ). Не отмечено также взаимосвязи между общей двухлетней выживаемостью и ЦМВ-серостатусом доноров и реципиентов: ОВ за 2 года для Д+/Р+ – 63% (95% ДИ 51–74), для Д+/Р– – 58% (95% ДИ 20–94); для Д-/Р+ – 66% (95% ДИ 53–78) и для Д-/Р– – 61% (95% ДИ 32–89).

Мы проанализировали корреляцию между восстановлением субпопуляций лимфоцитов CD3+, CD3-16+56+ и гамма/дельта CD3+TCR+ клеток в после-трансплантационном периоде и ЦМВ-реактивацией. Установлено, что более высокие абсолютные показатели гамма/дельта Т-лимфоцитов на всем временном интервале после +120-го дня от ТГСК наблюдаются у пациентов, перенесших ЦМВ-виремию (табл. 4). Абсолютное число НК-клеток на +60-е сутки после

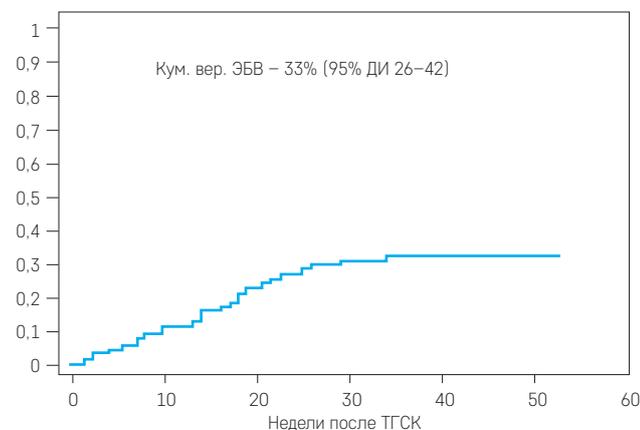
ТГСК также было выше у пациентов с ЦМВ-реактивацией – соответственно 0,33 и 0,24 $\times 10^9$ /л ( $p=0,002$ ).

**Эпштейн–Барр вирусная инфекция.** Годовая кумулятивная вероятность развития ЭБВ-виремии составила 33% (95% ДИ 26–42) (рис. 5). Медиана времени возникновения ЭБВ-виремии – 13,5 нед. (1–34 нед.); медиана продолжительности виремии – 2 нед. (1–13 нед.); медиана кратности реактивации – 1 нед. (1–4 нед.). Как в моновариантном, так и в мультивариантном анализе не отмечено достоверной разницы между кумулятивной вероятностью возникновения ЭБВ-виремии в зависимости от возраста, пола, типа донора, количества  $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов в трансплантате и посттрансплантационной профилактики РТПХ, основного диагноза, а также серологического статуса донора/реципиента (см. табл. 2, 3).

В моно- и мультивариантном анализе равнозначно высока вероятность возникновения ЭБВ-виремии у пациентов с острой РТПХ II–IV стадии (рис. 6). Отмечена тенденция к меньшей кумулятивной вероятности реактивации ЭБВ-виремии у пациентов, получивших кроличий антиtimoцитарный иммуноглобулин,

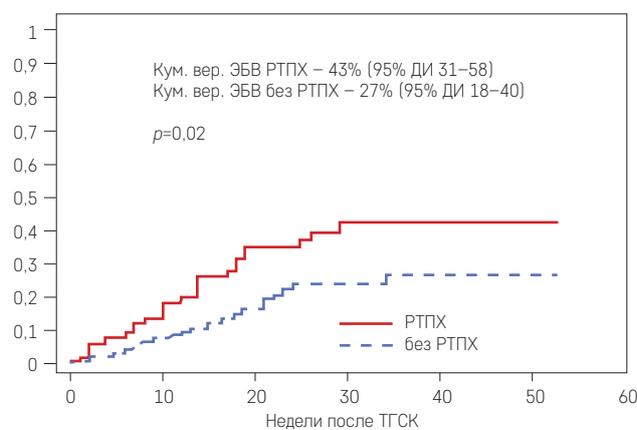
**Рисунок 5**

Кумулятивная вероятность ЭБВ-виремии у пациентов после TCR $\alpha\beta$ /CD19 деплеции



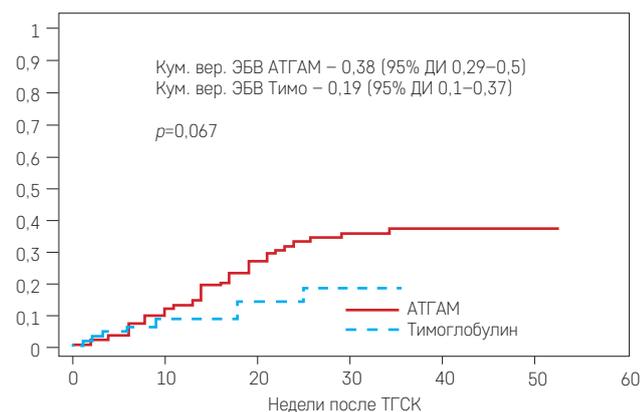
**Рисунок 6**

Кумулятивная вероятность ЭБВ-виремии у пациентов, имевших и не имевших острую РТПХ II–IV стадии



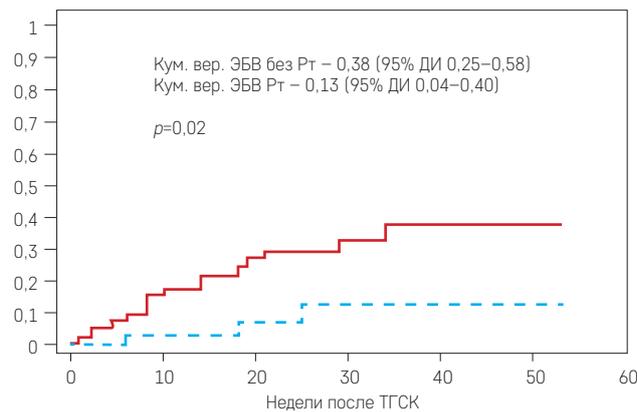
**Рисунок 7 А**

Кумулятивная вероятность ЭБВ-виремии у пациентов, получавших в кондиционировании АТГАМ или тимоглобулин



**Рисунок 7 Б**

Кумулятивная вероятность ЭБВ-виремии у пациентов, получивших и не получивших ритуксимаб в кондиционировании, с дозой В-клеток в трансплантате выше медианы



– 19% (95% ДИ 10–37) по сравнению с теми, кто получил лошадиный АТГ, – 38% (95% ДИ 29–50;  $p=0,067$ ) (рис. 7 А). Использование ритуксимаба в кондиционировании достоверно не влияло на частоту возникновения ЭБВ-виремии в общей группе пациентов, однако у пациентов, получивших дозу В-лимфоцитов выше медианы, достоверно отмечено протективное действие ритуксимаба в отношении развития ЭБВ-виремии: 13% у не получавших ритуксимаб (95% ДИ 4–40) против 38% у получавших ритуксимаб в кондиционировании (95% ДИ 25–58;  $p=0,02$ ) (рис. 7 Б). В мультивариантном анализе зафиксировано увеличение кумулятивной вероятности развития ЭБВ-виремии у ЭБВ-серонегативных пациентов, трансплантированных от ЭБВ-серопозитивных доноров, – HR 2,85 (95% ДИ 1,12–7,28;  $p=0,028$ ) (см. табл. 3).

В нашем исследовании был зарегистрирован единственный случай ПТЛС (моноклеозоподобный синдром), разрешившийся без терапии. Четверем пациентам проведена упреждающая терапия ритуксимабом в связи с превышением порогового значения количества копий ЭБВ в сыворотке крови. Ни одному из пяти пациентов не проводили терапию ритуксимабом на этапе кондиционирования. Не отмечено влияния ЭБВ-виремии на общую выживаемость: ОВ пациентов с ЭБВ-виремией – 70% (95% ДИ 56–84), без ЭБВ-виремии – 64% (95% ДИ 5–73;  $p=0,32$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Цитомегаловирусная инфекция.** Несмотря на улучшение методов контроля вирусных инфекций, включая активный мониторинг с использованием чувствительных тест-систем и применение упреждающей терапии, цитомегаловирус остается значимым в отношении патогенности микроорганизмом для реципиентов гемопоэтических стволовых клеток. Частота и время возникновения ЦМВ-виремии и ЦМВ-болезни коррелируют с типом донора, источником трансплантата, посттрансплантационной профилактикой РТПХ, режимом кондиционирования, ЦМВ-серологическим статусом донора/реципиента и другими параметрами. Согласно полученным в настоящей работе данным, применение  $TCR\alpha\beta$  и CD19 деплеции ассоциировано со значительным риском возникновения ЦМВ-виремии. Однако стоит отметить, что использование альтернативных методов (*in vivo*, *ex vivo*) Т-клеточной деплеции при ТГСК от гаплоидентичного донора, включая CD34-селекцию, алемтузумаб и посттрансплантационный циклофосфамид, в равной степени обуславливает повышение вероятности ЦМВ-виремии [31–34]. Единственным достоверным отличием от нашей группы пациентов является тот факт, что при использовании платформы CD34-селекции не отмечено переноса цитомегаловируса ЦМВ-негатив-

ному реципиенту от ЦМВ-позитивного донора [34]. Это наблюдение косвенно свидетельствует о том, что моноциты трансплантата, удаляемые при CD34-селекции, сохраняются в  $TCR\alpha\beta$  и CD19 деплетированном трансплантате и, вероятно, служат резервуаром для трансмиссии ЦМВ.

Как показано выше, в однофакторном и многофакторном анализе прослеживается достоверная закономерность между развитием острой РТПХ и вероятностью реактивации ЦМВ. Данная корреляция описана во многих работах и, вероятно, связана с влиянием системной иммуносупрессии при острой РТПХ на механизмы врожденного или остаточного перенесенного ЦМВ-специфичного иммунитета [13, 35, 36]. Нами продемонстрировано, что пациенты со злокачественными заболеваниями имеют более высокий риск реактивации ЦМВ-инфекции по сравнению с пациентами с незлокачественными заболеваниями, о чем свидетельствует результат мультивариантного анализа. Этот факт частично объясняют опубликованные сообщения о роли персистирующих ЦМВ-специфических Т-лимфоцитов реципиентов в контроле ЦМВ-инфекции после ТГСК [37]. Это предположение косвенно подтверждает большая частота смешанного химеризма в Т-клеточной фракции среди пациентов с незлокачественными заболеваниями из-за использования у них менее интенсивных режимов кондиционирования и, вероятно, отсутствия лимфодеплетировавших блоков химиотерапии до ТГСК. Эффекты смешанного химеризма в случае ЦМВ-виремии в моновариантном анализе статистически не достоверны, что можно объяснить влиянием количественного восстановления Т-лимфоцитов и небольшой выборкой пациентов. Наши данные указывают на то, что при одновременном применении Т-деплеции и серотерапии тип донора (то есть степень несовместимости по HLA) достоверно не влияет на частоту ЦМВ-реактивации. Предтрансплантационная экспозиция ЦМВ-инфекции, отраженная в серологическом статусе донора и реципиента, – значимый фактор риска реактивации ЦМВ-виремии и ЦМВ-болезни [5]. В нашей группе пациентов детского возраста с  $TCR\alpha/b$ -деплетированным трансплантатом серологический статус донора/реципиента достоверно коррелирует с вероятностью реактивации ЦМВ-инфекции. Трансплантация от ЦМВ-негативных доноров ЦМВ-позитивным реципиентам – самый опасный вариант в отношении возникновения ЦМВ-виремии. Мы предлагаем избегать данную комбинацию, так как повышенный риск ЦМВ-инфекции усиливает отсутствие возможности применения донорских Т-лимфоцитов для адаптивной клеточной терапии.

Неожиданным результатом нашего исследования оказалась высокая частота ЦМВ-виремии в группе Д-/Р-, причиной которой могут быть технические проблемы при выполнении лейкодеплеции компонен-

тов крови либо ошибочное определение серологического статуса реципиента до ТГСК.

Интересен тот факт, что в мультивариантном анализе у группы пациентов с «неуточненным» серологическим статусом достоверно возрастал риск ЦМВ-виремии. В данной подгруппе это можно объяснить высокой долей пациентов с комбинированными ПИД, с большей вероятностью они были ЦМВ-инфицированы, однако не могли быть зарегистрированы как ЦМВ-серопозитивные в связи с дефектом синтеза специфических антител или предшествующей терапией ВВИГ. Восстановление иммунной системы после трансплантации существенно влияет на контроль ЦМВ [38–40]. С другой стороны, реактивация ЦМВ-инфекции влияет на регенерацию и репертуар Т-лимфоцитов и НК-клеток [8, 41]. Наш анализ показал статистически достоверную положительную корреляцию между ЦМВ-виремией и восстановлением гамма/дельта Т-клеток на +120-й день и позже. Дальнейшие исследования должны быть сосредоточены на оценке патоген-специфического иммунного ответа.

Результаты исследования показывают, что ЦМВ-виремия не оказывает существенного влияния на выживаемость и трансплантат-ассоциированную смертность, подтверждая что применяемая стратегия мониторинга и упреждающей терапии достаточно эффективна для предотвращения развития ЦМВ-болезни у большинства пациентов. Несмотря на относительно высокую частоту ЦМВ-виремии, ЦМВ-болезнь встречалась редко и только в популяции пациентов высокого риска. Мы полагаем, что острая РТПХ и ассоциированная терапия кортикостероидами ограничивают возможности иммунного контроля вируса у большинства пациентов с ЦМВ-болезнью. Интересно, что наибольшее количество случаев ЦМВ-ретинита в нашем исследовании обнаружено у пациентов с комбинированными первичными иммунодефицитами, подтверждая высокую склонность этой когорты к развитию ЦМВ-ретинита, как описали *Hiwarkar* и др. [42].

### Эпштейн–Барр вирусная инфекция

Посттрансплантационная лимфопрлиферативная ЭБВ-ассоциированная болезнь – жизнеугрожающее осложнение у реципиентов Т-деплементированных трансплантатов. С целью предотвращения данного осложнения была предложена деплеция В-лимфоцитов – основного резервуара ЭБВ [24, 43]. Наши результаты показывают, что ЭБВ-ассоциированный посттрансплантационный лимфопрлиферативный синдром – чрезвычайно редкое событие в контексте TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплеции. В мультивариантном анализе возникновение острой РТПХ  $\geq$  II стадии и серологический статус Д+/Р- являются достоверными факторами риска развития ЭБВ-виремии после трансплантации. Факторы риска для ЭБВ-ПТЛС не определены в связи

с недостаточной частотой интересующих событий. Мы полагаем, что улучшенный контроль за ЭБВ-инфекцией – результат комбинации CD19 деплеции трансплантата и терапии ритуксимабом. В нашем исследовании показано, что ЭБВ-реактивация не влияет на результаты ТГСК, а используемая стратегия снижает значимость ЭБВ-инфекции после ТГСК. В данном контексте необходимость мониторинга ЭБВ может быть подвергнута сомнению.

## ВЫВОДЫ

В работе показано, что применение TCR $\alpha\beta$  и CD19 деплеции трансплантата ассоциировано с относительно высоким риском развития ЦМВ-инфекции, однако это не оказывает влияния на основные исходы ТГСК. Мы предлагаем по возможности отказываться от проведения трансплантации от серонегативного донора к серопозитивному реципиенту. Фактически проблема ЭБВ-ПТЛС как осложнения в посттрансплантационном периоде полностью решена. В будущем необходимы систематическое исследование и разработка методов, направленных на восстановление патоген-специфического иммунного ответа, таких как адаптивный перенос вирус-специфических лимфоцитов и донорских лимфоцитов памяти.

### Благодарность

Авторы благодарят врачей и медицинских сестер отделений трансплантации гемопоэтических стволовых клеток № 1 и № 2, сотрудников лабораторий молекулярной биологии, микробиологии и биологии трансплантата, Юлию Викторовну Старичкову за создание базы данных ТГСК; Марину Игоревну Персианцеву и Сюзанну Морш за работу по поиску неродственных доноров. Мы благодарны фонду «Подари жизнь» за постоянную поддержку и заботу о пациентах.

### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

### ORCID

А.А. Богоявленская <http://orcid.org/0000-0002-9282-6883>

## Литература

- Bertaina A., Merli P., Rutella S., Pagliara D., Bernardo M.E., Masetti R. et al. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of  $\alpha\beta^+$  T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood*. 2014;124(5):822–826.
- Balashov D., Shcherbina A., Maschan M., Trakhtman P., Skvortsova Y., Shelikhova L. et al. Single-Center Experience of Unrelated and Haploidentical Stem Cell Transplantation with TCR $\alpha$  and CD19 Depletion in Children with Primary Immunodeficiency Syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21:1955–1962.
- Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D. et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone marrow transplant*. 2016;51:668–674.
- Peterson P.K., McGlave P., Ramsay N.K., Rhame F., Cohen E., Perry GS. 3<sup>rd</sup> et al. A prospective study of infectious diseases following bone marrow transplantation: emergence of Aspergillus and Cytomegalovirus as the major causes of mortality. *Infect Control*. 1983;4: 81–89.
- Ljungman P. The role of cytomegalovirus serostatus on outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol*. 2014;21:466–469.
- Boeckh M., Nichols W.G. The impact of cytomegalovirus serostatus of donor and recipient before hematopoietic stem cell transplantation in the era of antiviral prophylaxis and preemptive therapy. *Blood*. 2004;103:2003–2008.
- Jain N.A., Lu K., Ito S., Muranski P., Hourigan C.S., Haggerty J. et al. The clinical and financial burden of pre-emptive management of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation-implications for preventative treatment approaches. *Cytotherapy*. 2014;16:927–933.
- Davis Z.B., Cooley S.A., Cichocki F., Felices M., Wangen R., Luo X. et al. Adaptive Natural Killer Cell and Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor-Expressing T Cell Responses are Induced by Cytomegalovirus and Are Associated with Protection against Cytomegalovirus Reactivation after Allogeneic Donor Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21:1653–1662.
- Couriel D., Canosa J., Engler H., Collins A., Dunbar C., Barrett A.J. Early reactivation of cytomegalovirus and high risk of interstitial pneumonitis following T-depleted BMT for adults with hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 1996;18:347–353.
- Lugthart G., van Ostaijen-Ten Dam M.M., Jol-van der Zijde C.M., van Holten T.C., Kester M.G., Heemskerk M.H. et al. Early cytomegalovirus reactivation leaves a specific and dynamic imprint on the reconstituting T cell compartment long-term after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(5):655–661.
- Miller W., Flynn P., McCullough J., Balfour H.H. Jr, Goldman A., Haake R. et al. Cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation: an association with acute graft-v-host disease. *Blood*. 1986;67:1162–1167.
- Yoon J.H., Lee S., Kim H.J., Jeon Y.W., Lee S.E., Cho B.S. et al. Impact of cytomegalovirus reactivation on relapse and survival in patients with acute leukemia who received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in first remission. *Oncotarget*. 2016;7:17230–17241.
- Wu J.L., Ma H.Y., Lu C.Y., Chen J.M., Lee P.I., Jou S.T. et al. Risk factors and outcomes of cytomegalovirus viremia in pediatric hematopoietic stem cell transplantation patients. *J Microbiol Immunol Infect*. 2015.
- Kalra A., Williamson T., Daly A., Savoie M.L., Stewart D.A., Khan F. et al. Impact of Donor and Recipient Cytomegalovirus Serostatus on Outcomes of Antithymocyte Globulin-Conditioned Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22:1654–1663.
- Ljungman P., Brand R., Hoek J., de la Camara R., Cordonnier C., Einsele H. et al. Donor cytomegalovirus status influences the outcome of allogeneic stem cell transplant: a study by the European group for blood and marrow transplantation. *Clin Infect Dis*. 2014;59:473–481.
- Elmaagacli A.H., Steckel N.K., Koldenhoff M., Hegerfeldt Y., Trenschel R., Ditschkowski M. et al. Early human cytomegalovirus replication after transplantation is associated with a decreased relapse risk: evidence for a putative virus-versus-leukemia effect in acute myeloid leukemia patients. *Blood*. 2011;118:1402–1412.
- Manjappa S., Bhamidipati P.K., Stokler-Goldstein K.E., DiPersio J.F., Uy G.L., Westervelt P. et al. Protective effect of cytomegalovirus reactivation on relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia patients is influenced by conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20:46–52.
- Schmidt-Hieber M., Labopin M., Beelen D., Volin L., Ehninger G., Finke J. et al. CMV serostatus still has an important prognostic impact in de novo acute leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation: a report from the Acute Leukemia Working Party of EBMT. *Blood*. 2013;122:3359–3364.
- Teira P., Battiwalla M., Ramanathan M., Barrett A.J., Ahn K.W., Chen M. et al. Early cytomegalovirus reactivation remains associated with increased transplant-related mortality in the current era: a CIBMTR analysis. *Blood*. 2016;127:2427–2438.
- Zutter M.M., Martin P.J., Sale G.E., Shulman H.M., Fisher L., Thomas E.D. et al. Epstein-Barr virus lymphoproliferation after bone marrow transplantation. *Blood*. 1988;72:520–529.
- Lynch B.A., Vasef M.A., Comito M., Gilman A.L., Lee N., Ritchie J. et al. Effect of in vivo lymphocyte-depleting strategies on development of lymphoproliferative disorders in children post allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003;32:527–533.

22. Micallef I.N., Chhanabhai M., Gascoyne R.D., Shepherd J.D., Fung H.C., Nantel S.H. et al. Lymphoproliferative disorders following allogeneic bone marrow transplantation: the Vancouver experience. *Bone Marrow Transplant.* 1998;22:981–987.
23. Handgretinger R. New approaches to graft engineering for haploidentical bone marrow transplantation. *Semin Oncol.* 2012;39(6):664–673.
24. Schumm M., Lang P., Bethge W., Faul C., Feuchtlinger T., Pfeiffer M. et al. Depletion of T-cell receptor alpha/beta and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device. *Cytotherapy.* 2013;15(10):1253–1258.
25. Muccio L., Bertaina A., Falco M., Pende D., Meazza R., Lopez-Botet M. et al. Analysis of memory-like natural killer cells in human cytomegalovirus-infected children undergoing alpha/beta+T and B cell-depleted hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies. *Haematologica.* 2016;101:371–381.
26. Knight A., Madrigal A.J., Grace S., Sivakumaran J., Kottaridis P., Mackinnon S. et al. The role of Vdelta2-negative gamma/delta T cells during cytomegalovirus reactivation in recipients of allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2010;116:2164–2172.
27. Farnault L., Gertner-Dardenne J., Gondois-Rey F., Michel G., Chambost H., Hirsch I. et al. Clinical evidence implicating gamma-delta T cells in EBV control following cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48:1478–1479.
28. Scheper W., van Dorp S., Kersting S., Pietersma F., Lindemans C., Hol S. et al. gamma/delta T cells elicited by CMV reactivation after allo-SCT cross-reactivate CMV and leukemia. *Leukemia.* 2013;27:1328–1338.
29. Airoidi I., Bertaina A., Prigione I., Zorzoli A., Pagliara D., Cocco C. et al.  $\gamma\delta$  T-cell reconstitution after HLA-haploidentical hematopoietic transplantation depleted of TCR- $\alpha\beta$ /CD19<sup>+</sup> lymphocytes. *Blood.* 2015;125(15):2349–2358.
30. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J. et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.* 1995;15:825–828.
31. Goldsmith S.R., Slade M., DiPersio J.F., Westervelt P., Lawrence S.J., Uy G.L. et al. Cytomegalovirus viremia, disease, and impact on relapse in T-cell replete peripheral blood haploidentical hematopoietic cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide. *Haematologica.* 2016;101(11):e465–e468.
32. Crocchiolo R., Bramanti S., Vai A., Sarina B., Miner R., Casari E. et al. Infections after T-replete haploidentical transplantation and high-dose cyclophosphamide as graft-versus-host disease prophylaxis. *Transpl Infect Dis.* 2015;17:242–249.
33. Buyck H.C., Prentice H.G., Griffiths P.D., Emery V.C. The risk of early and late CMV DNAemia associated with Campath use in stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45:1212–1219.
34. Huang Y.T., Neofytos D., Foldi J., Kim S.J., Maloy M., Chung D. et al. Cytomegalovirus Infection after CD34(+)-Selected Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22:1480–1486.
35. Hakki M., Riddell S.R., Storek J., Carter R.A., Stevens-Ayers T., Sudour P. et al. Immune reconstitution to cytomegalovirus after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: impact of host factors, drug therapy, and subclinical reactivation. *Blood.* 2003;102:3060–3067.
36. Yoon H.S., Lee J.H., Choi E.S., Seo J.J., Moon H.N., Kim M.N. et al. Cytomegalovirus infection in children who underwent hematopoietic stem cell transplantation at a single center: a retrospective study of the risk factors. *Pediatr Transplant.* 2009;13:898–905.
37. Sellar R.S., Vargas F.A., Henry J.Y., Verfuert S., Charrot S., Beaton B. et al. CMV promotes recipient T-cell immunity following reduced-intensity T-cell-depleted HSCT, significantly modulating chimerism status. *Blood.* 2015;125:731–739.
38. Moins-Teisserenc H., Busson M., Scieux C., Bajzik V., Cayuela J.M., Clave E. et al. Patterns of cytomegalovirus reactivation are associated with distinct evolutive profiles of immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect Dis.* 2008;198:818–826.
39. Lilleri D., Gerna G., Fornara C., Chiesa A., Comolli G., Zecca M. et al. Human cytomegalovirus-specific T cell reconstitution in young patients receiving T cell-depleted, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect Dis.* 2009;199:829–836.
40. Lilleri D., Gerna G., Zelini P., Chiesa A., Rognoni V., Mastronuzzi A. et al. Monitoring of human cytomegalovirus and virus-specific T-cell response in young patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *PLoS One.* 2012;7:e41648.
41. Link C.S., Eugster A., Heidenreich F., Rucker-Braun E., Schmiedgen M., Oelschlägel U. et al. Abundant cytomegalovirus (CMV) reactive clonotypes in the CD8(+) T cell receptor alpha repertoire following allogeneic transplantation. *Clin Exp Immunol.* 2016;184:389–402.
42. Hiwarkar P., Gajdosova E., Qasim W., Worth A., Breuer J., Chiesa R. et al. Frequent occurrence of cytomegalovirus retinitis during immune reconstitution warrants regular ophthalmic screening in high-risk pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2014;58:1700–1706.
43. Barfield R.C., Otto M., Houston J., Holaday M., Geiger T., Martin J. et al. A one-step large-scale method for T- and B-cell depletion of mobilized PBSC for allogeneic transplantation. *Cytotherapy.* 2004;6:1–6.