

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АЛЛОГЕННОГО КОСТНОГО МОЗГА БЕЗ ПРОВЕДЕНИЯ ПРЕДТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИКЛОФОСФАМИДА И МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В КАЧЕСТВЕ ИНДУКЦИИ ТОЛЕРАНТНОСТИ

М.Ю. Дроков, Е.Н. Паровичникова, Л.А. Кузьмина, В.А. Васильева, Е.С. Урнова, В.В. Троицкая,
Г.М. Галстян, Р.Ф. Богданов, В.Г. Савченко

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

Резюме. Описано клиническое наблюдение больного, у которого после химиотерапии развилась глубокая нейтропения, тяжелые инфекционные осложнения. Длительная аплазия осложнилась не позволяли выполнить предтрансплантационное кондиционирование с проведением стандартной иммуносупрессии в связи с крайне высоким риском летального исхода. Была осуществлена трансплантация аллогенного костного мозга от родственного донора. Иммуносупрессию было решено проводить только с использованием циклофосфамида в дозе 50 мг/кг на +3-й день после трансплантации и мезенхимальных стромальных клеток при восстановлении показателей гемограммы. На +19-й день по данным гемограммы констатировано приживление трансплантата. Спустя 3 мес после трансплантации больной был выписан. В настоящее время (через 12 мес после трансплантации костного мозга) сохраняется 100% донорская химера. Представленное клиническое наблюдение является первым описанным удачным случаем выполнения трансплантации костного мозга без предварительного предтрансплантационного кондиционирования у больного острым лейкозом и длительной аплазией после курса химиотерапии.

Ключевые слова: трансплантация аллогенного костного мозга; циклофосфамид; мезенхимальные стромальные клетки; толерантность; отсутствие кондиционирования.

ALLOGENIC BONE MARROW TRANSPLANTATION WITHOUT PRETRANSPLANTATION CONDITIONING AND TOLERANCE INDUCTION BY CYCLOPHOSPHAMIDE AND MESENCHYMAL STROMAL CELLS

M.Yu. Drovkov, E.N. Parovichnikova, L.A. Kuzmina, V.A. Vasilyeva, E.S. Urnova, V.V. Troitskaya, G.M. Galstyan, R.F. Bogdanov,
V.G. Savchenko

Hematology Research Center, Moscow, Russia

Summary. Case report of a patient developed deep neutropenia and severe infectious complications after chemotherapy is presented. Lasting aplasia after a course of chemotherapy, life-threatening infectious complications did not allow pretransplantation conditioning with standard immunosuppression because of extremely high risk of a lethal outcome. Allogenic bone marrow transplantation from a related donor was carried out. Immunosuppression was carried out only with cyclophosphamide (50 mg/kg on day 3 after transplantation) and mesenchymal stromal cells. Transplant healing (WBC $>1 \cdot 10^9/l$) was diagnosed on day 19. The patient was discharged 3 months after transplantation. 12 months after bone marrow transplantation a 100% donor chimera persists. This case report is the first report about effective bone marrow transplantation without pretransplantation conditioning in a patient with acute leukemia and lasting aplasia after chemotherapy.

Key words: allogenic bone marrow transplantation; cyclophosphamide; mesenchymal stromal cells; tolerance, no conditioning.

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток крови (алло-ТГСК) — это трансплантация клеток, принадлежащих двум системам — гемопоэтической и иммунной. Именно реконституция иммунной системы донора определяет ключевые иммунологические эффекты трансплантации стволовых клеток крови — реакцию трансплантат против хозяина (РТПХ) и связанную с ней реакцию трансплантат против лейкоза (РТПЛ). РТПЛ является ключевым механизмом контроля над опухолью у хозяина после алло-ТГСК.

Первые эксперименты по трансплантации аллогенного костного мозга были проведены в 1939 г., когда P.Rekers и соавт. [1] выполнили трансфузию костно-мозговой взвеси облученным в дозе 350 сГр

собакам. Однако в этих экспериментах не было достигнуто приживления трансплантата. Эта неудача, вероятнее всего, была связана с недостаточной дозой облучения, использовавшейся в качестве режима кондиционирования перед алло-ТГСК. В 1957 г. E. Thomas и соавт. [2] первые попытались выполнить ТГСК у больных. Шести больным с опухолевыми заболеваниями системы крови и солидными опухолями в терминальной стадии после тотального облучения тела была выполнена алло-ТГСК. У 2 из них удалось получить временное приживление кровяных клеток донора, так называемый транзиторный химеризм. С этих пор ТГСК стала специализированным методом лечения многих заболеваний, и к 2012 г. в мире было выполнено 1 млн ТГСК.

С момента внедрения алло-ТГСК в клиническую практику считалось, что ее выполнение невозможно без проведения предварительного предтрансплантационного кондиционирования, целью которого является как миело-, так и иммуносупрессия. В настоящее время режимы кондиционирования подразделяют на 3 основные группы.

Для корреспонденции:

Дроков Михаил Юрьевич, врач-гематолог отделения трансплантации костного мозга ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России.

Адрес: Москва, 125167, Новый Зыковский проезд, д.4а.

Телефон: +7(495)614-90-42.

E-mail: mdrovkov@gmail.com

К первой группе относятся немиелоаблативные режимы, которые характеризуются минимальной длительностью цитопении и высокой вероятностью аутореконституции без дополнительной трансфузии стволовых клеток крови. К таким режимам относят программу Flag-IDA (флюдарабин+идарубицин), а также тотальное облучение тела в суммарной дозе 2 Гр.

Вторая группа — режимы пониженной интенсивности, так называемые мини-трансплантации. Их характеризует более длительная цитопения и практически полная невозможность аутореконституции после проведения данного кондиционирования без инфузии гемопоэтических клеток. В свою очередь эти режимы делят на режимы минимальной интенсивности — флюдарабин + циклофосфамид (ЦФ) и режимы умеренной интенсивности — флюдарабин + мелфалан, флюдарабин + бусульфан, флюдарабин + ЦФ + тотальное облучение тела.

Если режим кондиционирования содержит большие дозы препаратов или облучения, его относят к миелоаблативному — третьей группе режимов кондиционирования. В этом режиме дозы препаратов сублетальны и восстановление за счет аутореконституции полностью невозможно. Наиболее известным миелоаблативным режимом является бусульфан + ЦФ и бусульфан + тотальное облучение тела.

По мнению экспертов International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) [3], любой режим кондиционирования, который включает дозу тотального облучения менее 500 сГр (единовременно) или менее 800 сГр фракционированно, бусульфан в дозе менее 9 мг/кг, мелфалан менее 140 мг/м², тиотепа менее 10 мг/кг, можно отнести к режимам пониженной интенсивности.

Учитывая, что исторически на первых этапах становления трансплантации ее применяли лишь в качестве терапии спасения при рефрактерных опухолях, именно миелоаблативные режимы до недавнего времени использовали при ТГСК. Трансплантация без кондиционирования выполнялась лишь детям с врожденными иммунодефицитами и в настоящее время используется только в детской трансплантологии [4, 5].

В литературе нет описаний алло-ТГСК у взрослых больных гемобластозами без проведения предтрансплантационного кондиционирования.

Приводим описание клинического наблюдения алло-ТГСК у больного острым лейкозом без предтрансплантационного кондиционирования после длительной миелосупрессии с применением ЦФ в качестве индуктора толерантности.

Больной Б., 51 год, был госпитализирован в Гематологический научный центр (ГНЦ) Минздрава России (Москва) в мае 2012 г. с направительным диагнозом — острый миелобластный лейкоз (ОМЛ). При поступлении в периферической крови отмечались лейкоцитоз ($21 \cdot 10^9/\text{л}$), бластные клетки — 75%. В миелограмме выявлены 75% бластных клеток, палочки Ауэра; при цитохимическом исследовании определялись позитивная реакция на миелопероксидазу, PAS в диффузном виде; α -нафтилэстераза —

следовая активность. При проточной цитометрии обнаружены бластные клетки с фенотипом CD117⁺/CD13⁺/CD33⁺/CD64⁺/CD34⁺/HLA-DR⁺/CD38⁺/CD36⁺. По данным кариологического исследования выявлена транслокация t(8;21), методом флюоресцентной *in situ* гибридизации (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) — 93% клеток с транслокацией t(8;21). Таким образом, у больного, согласно классификации ВОЗ [6], был установлен диагноз: острый миелобластный лейкоз с транслокацией t(8;21). Больному была начата индукция ремиссии по протоколу ОМЛ 01.10 [7]. После первого курса химиотерапии (ХТ) по программе «7+3» достичь полной ремиссии не удалось — в костном мозге было 8% бластных клеток. После второго курса ХТ по схеме «7+3», законченного в июле 2012 г., была диагностирована полная клинико-гематологическая и цитогенетическая ремиссия. В это же время было выполнено типирование сиблингов, и найден HLA-идентичный сиблинг (родная сестра). Однако, учитывая группу благоприятного прогноза, согласно цитогенетическому исследованию, трансплантация от родной сестры рассматривалась в качестве лечения в период второй ремиссии. В соответствии с протоколом, больному в качестве консолидации в начале августа 2012 г. был проведен курс по программе, включающей средние дозы цитозара и митоксантрона (IdacMito). Период глубокого миелотоксического агранулоцитоза продолжался более 25 дней (лейкоциты $0,05 \cdot 10^9/\text{л}$). При контрольном исследовании костного мозга на +28-й день после окончания курса доля бластных клеток составила 2% на фоне тотальной аплазии костного мозга и сохраняющегося агранулоцитоза. Единственным способом восстановления кроветворения у этого больного была инфузия стволовых клеток крови от родственного донора. При этом к моменту постановки вопроса о возможной трансплантации аллогенного костного мозга в качестве терапии спасения у больного наблюдались инфекционные осложнения: синегнойный сепсис и инвазивный аспергиллез легких. Наличие тяжелых инфекционных осложнений не позволяло провести предтрансплантационное кондиционирование даже в режиме пониженной интенсивности, проведение стандартной иммуносупрессивной терапии также угрожало жизни больного. В связи с этим на фоне панцитопении (гемоглобин 66 г/л, тромбоциты $32 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоциты $0,03 \cdot 10^9/\text{л}$) 07.09.12, на +30-й день после окончания курса IdacMito больному была выполнена ТГСК от родственного донора. В условиях отделения реаниматологии и интенсивной терапии, куда он был переведен в связи с нарушением сознания на фоне сепсиса, была перелита костномозговая взвесь, содержащая $3,0 \cdot 10^8/\text{кг}$ миелокариоцитов. Иммуносупрессию проводили только с использованием ЦФ в дозе 50 мг/кг на +3-й день после трансплантации. В этот период в рамках терапии септического шока применяли гидрокортизон в виде постоянной инфузии в дозе 200 мг/сут в течение 2 нед, однако его роль в этой ситуации оценить сложно. Уже на +19-й день по данным гемограммы было констатировано приживление трансплантата. На +20-й день больному с целью профилактики РТПХ выполнена инфузия мезенхимальных стромальных (МСК) в дозе $1 \cdot 10^6/\text{кг}$ [8]. При исследовании на +30-й день констатирована сохраняющаяся ремиссия заболевания: лейкоциты $3 \cdot 10^9/\text{л}$, в костном мозге выявлено 0,5% бластных клеток: по данным кариологического исследо-

вания донорское кроветворение составило 85%. В последующие контрольные сроки (+60; +90 и +120-й дни после алло-ТГСК) происходило постепенное уменьшение «хозяйского» кроветворения до 4,8% на сроке +4 мес после трансплантации, +5 мес было выявлено 100% донорское кроветворение в костном мозге. На +48-й день у больного была диагностирована острая РТПХ с поражением кожи и печени II степени, в связи с чем уже вне инфекционных осложнений была начата терапия циклоспорином А в дозе 3 мг/кг без использования глюкокортикостероидов. Эффект был получен в течение 7 дней, затем больной был переведен на пероральный прием препарата. Спустя 3 мес после ТГСК больной был выписан. В настоящее время прошло 11 мес после ТГСК, сохраняются полная клинико-гематологическая, цитогенетическая и молекулярная ремиссия, 100% донорская химера. Иммуносупрессивная и сопроводительная терапия не проводится.

Обсуждение

Важной вехой в истории индукции толерантности при трансплантации являются опыты по котрансплантации J. Trentin и соавт. [9], в которых мышам после восстановления костного мозга за счет донорского кроветворения пересаживали участки донорской кожи, получая при этом приживление без какой-либо реакции отторжения.

Согласно современным представлениям [10], толерантность — это состояние ареактивности к определенному антигену. В трансплантологии под толерантностью принято понимать состояние, при котором иммунная система донора не оказывает деструктивного воздействия на те органы и ткани, которые экспрессируют «нужные антигены», и полностью реагирует на чужеродные [11].

Во многих работах показано, что интратимическое уничтожение ауто- и аллоагрессивных лимфоцитов является ключевым этапом развития толерантности после алло-ТГСК [10—12]. Этим объясняется увеличение частоты РТПХ у людей старше 35 лет, когда тимус уже подвергся значительной инволюции. Это подтверждают эксперименты A. Pullen и соавт. [12], основой для которых послужил тот факт, что у одной мышшиной линии на всех Т-клетках, начиная с самых ранних предшественников, экспрессируется цепь V β 17a, а у другой линии нет. У мышшиной первой линии (без V β 17a) после введения клеточной взвеси селезенки другой линии (с V β 17a на Т-клетках) начинали детектироваться V β 17a⁺-тимоциты и другие ранние формы Т-клеток, однако по мере созревания они элиминировались в тимусе как аутореактивные и впоследствии не обнаруживались в периферической крови.

Вторым механизмом развития толерантности является так называемая функциональная инактивация. Встречаясь с антигеном, презентированном на поверхности клетки, из-за невозможности получить адекватную костимуляцию вследствие сниженной экспрессии Т-клеточного рецептора, низкой аффинности рецептора с презентруемым антигеном, их низкой avidности лимфоцит не может начать активно пролиферировать. Когда речь идет о Т-клетках, анергия также может быть связана с недостаточной

продукцией собственного интерлейкина-2 (ИЛ-2), что в свою очередь стало основой создания клинических протоколов, в которых экзогенный ИЛ-2 используют как средство активации Т-клеток. В настоящее время многие клиники с целью потенцирования РТПХ используют рекомбинантный ИЛ-2 в различных протоколах алло-ТГСК [13, 14].

Еще одним способом индукции толерантности является применение иммуносупрессии.

Одним из первых препаратов, который применяли в качестве иммуносупрессанта после алло-ТГСК, был метотрексат. Механизм действия метотрексата связан с необратимым связыванием с дигидрофолатредуктазой, что препятствует восстановлению дигидрофолата в активный тетрагидрофолат и приводит к нарушению синтеза пуриновых нуклеотидов, подавлению клеточной пролиферации [15].

В настоящее время чаще всего в качестве иммуносупрессивных препаратов используют кальциневриновые ингибиторы (циклоспорин А, такролимус). Эти препараты в течение долгого времени прочно занимают первое место в протоколах профилактики острой РТПХ после алло-ТГСК. Их недостатком является то, что, помимо ингибирования пролиферации цитотоксических Т-лимфоцитов за счет блока продукции ИЛ-2, они также сдерживают развитие субпопуляций Т-регуляторных клеток. Т-регуляторные клетки являются важным компонентом в сдерживании РТПХ [16], их пролиферация напрямую зависит от ИЛ-2, при этом сами клетки его не продуцируют. Интересным представляется факт блокировки FLIP-зависимого апоптоза (FLICE Inhibitor Protein; FLICE, устаревшее название каспазы 8) праймированных Т-лимфоцитов, который возникает под действием ингибиторов кальциневрина и приводит к иммортализации агрессивных по отношению к хозяину донорских лимфоцитов [17]. Это, по-видимому, и объясняет эффект «рикошета» — возникновение РТПХ после отмены иммуносупрессивной терапии циклоспорином А [16, 18].

Еще одним способом индукции толерантности и снижения частоты РТПХ является проведение перед выполнением ТГСК Т-клеточной деплеции, т.е. удаление из трансплантата большей части Т-лимфоцитов, чаще всего путем высокоактивной магнитной сепарации. При Т-клеточной деплеции частота развития РТПХ значительно ниже, чем при использовании нативного трансплантата. После Т-клеточной деплеции острая РТПХ была диагностирована у 22% больных, в то время как без нее частота острой РТПХ составила 45% [19]. Однако частота рецидивов при проведении Т-клеточной деплеции, по данным V. Но и соавт. [19], при трансплантации у больных хроническим миелолейкозом была выше в 6 раз, а у больных острыми лейкозами — в 2 раза. Эти факты наряду с высокой стоимостью деплеции ограничивают ее использование.

Начиная с 1960-х годов идея проведения целевой иммуносупрессии, направленной на подавление агрессии иммунокомпетентных клеток донора по отношению к хозяйским тканям, без оказания системного действия, оставалась одной из ведущих

в трансплантологии. В 1959 г. опубликована работа R. Schwartz, W. Dameshek [20], в которой при иммунизации кроликов человеческой сывороткой в качестве индукции иммунологической толерантности использовали 6-меркаптопурин. В этом эксперименте кроликов иммунизировали человеческим сывороточным альбумином, а затем ежедневно в течение 1 нед вводили 6-меркаптопурин. Таким образом, у кроликов была индуцирована толерантность к человеческому альбумину, при этом введение бычьего γ -глобулина вызывало полноценный иммунный ответ с формированием антител.

В 1963 г., по данным M. Berenbaum и I. Brown [21], при введении ЦФ на +1—3-й день после трансплантации кожи отмечалось более позднее отторжение трансплантата. G. Santos и A. Owens [22] получили снижение частоты и тяжести РТПХ у крыс после трансплантации взвеси клеток селезенки и введения ЦФ. В середине 1990-х годов H. Maizumi и соавт. [23] и T. Maeda и соавт. [24] показали, что при использовании котрансплантации солидных органов и костного мозга или трансплантации гемопоэтических клеток у мышей с последующим введением высоких доз ЦФ в течение 2 дней в период с +1-го по +3-й день после трансплантации отмечено исчезновение аллореактивного клона Т-лимфоцитов. Авторы считали, что в основе индукции толерантности лежат 3 механизма: уничтожение периферического клона Т-лимфоцитов, деструкция аллореактивного клона в тимусе, возникновение популяции специфических Т-супрессоров.

В конце 1990-х годов появились сообщения [25] об использовании высоких доз ЦФ в сочетании со стандартной иммуносупрессией для индукции толерантности у больных после алло-ТГСК от гаплоидентичного донора. В 2002 г. была опубликована работа L. Luznik и соавт. [26], в которой подтверждена эффективность применения ЦФ в качестве индуктора толерантности при алло-ТГСК. В дальнейшем опубликованы данные нескольких групп исследователей из Сиэтла и Балтимора [27], которые наряду со стандартной иммуносупрессией использовали введение ЦФ в дозе 50 мг/кг в сутки на +3-й либо на +3-й и +4-й день после алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с целью индукции толерантности [27]. Частота острой РТПХ II—IV и III—IV степени составила 34 и 6% соответственно. Причем снижение частоты острой РТПХ при эскалации дозы ЦФ не происходило. Согласно данным M. Kastan и соавт. [28], в гемопоэтических предшественниках определяется высокий уровень альдегиддегидрогеназы, что делает их не восприимчивыми к высоким дозам ЦФ, так как именно с участием альдегиддегидрогеназы элиминируются цитотоксические метаболиты ЦФ.

С 2007 г. в ГНЦ (Москва) ведется проспективное рандомизированное исследование [8] по использованию МСК в качестве профилактики острой РТПХ. В группе больных ($n = 37$) гемобластозами после алло-ТГСК были показаны статистически значимые различия в снижении частоты острой РТПХ II—IV степени с 38,9 до 5,3% ($p = 0,02$).

Таким образом, использование ЦФ и МСК в качестве направленной только на аллореактивные Т-клоны профилактики РТПХ и индукции толерантности может оправдать себя у больных с развернутой формой заболевания, у которых быстрое восстановление компетентной иммунной системы донора необходимо для полного контроля над опухолью или у которых проведение системной иммуносупрессии связано с высоким риском гибели от сопутствующей неконтролируемой инфекции.

Описанное выше клиническое наблюдение является первым удачным случаем выполнения трансплантации костного мозга без предварительного предтрансплантационного кондиционирования у больного острым лейкозом и длительной аплазией после курса стандартной химиотерапии.

Проведенная за 30 дней до ТГСК химиотерапия индуцировала такую глубокую аплазию кроветворения, которая позволила не использовать традиционный режим кондиционирования. Тем более что ТГСК выполняли на фоне жизнеугрожающей инфекции. Принимая во внимание высокую вероятность развития острой РТПХ и невозможность использования стандартной схемы профилактики, было принято решение не использовать классическую иммуносупрессию (циклоспорин А и метотрексат) и применить ЦФ и МСК в качестве индуктора толерантности. Следует подчеркнуть, что, возможно, определенную роль в профилактике острой РТПХ сыграл гидрокортизон, который был назначен больному в рамках программного лечения септического шока.

Полное и адекватное восстановление показателей крови после выполнения алло-ТГСК позволило эффективно купировать все инфекционные осложнения. Приживление трансплантата происходило постепенно, и полный химеризм был достигнут к +5-му месяцу. Молекулярный маркер ОМЛ t(8;21) не определялся.

Таким образом, один клинический случай применения алло-ТГСК в качестве терапии спасения дает уникальный повод к развитию новых подходов к выполнению алло-ТГСК. К настоящему времени в нашем отделении выполнено 7 алло-ТГСК (из них 2 от неродственного донора) без классической иммуносупрессии только с введением ЦФ и МСК, однако этот вопрос нуждается в дальнейшем исследовании.

REFERENCES [ЛИТЕРАТУРА]

1. *Rekers P.E.* Transplantation of bone marrow into dogs that have received total-body single dose radiation. University of Rochester U.S. Atomic Energy Commission. Technical Information Division. New York; 1939.
2. *Thomas E.D., Lochte H.L., Lu W.C., Ferrebee J.W.* Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* 1957; 257(11): 491—6.
3. *Maziarz R.T., Slater S.* Blood and marrow transplant handbook. Oregon: Springer; 2011.
4. *Gaspar H.B., Aiuti A., Porta F., Candotti F., Hershfield M.S., Notarangelo L.D.* How I treat ADA deficiency. *Blood.* 2009; 114(17): 3524—32.

5. *Cancrini C., Ferrua F.* Role of reduced intensity conditioning in T-cell and B-cell immune reconstitution after HLA-identical bone marrow transplantation in ADA-SCID, *Haematologica*. 2010; 95(10): 1778—82.
6. *Vardiman J.W., Harris N.L., Brunning R.D.* The WHO classification of the myeloid neoplasms. *Blood*. 2002; 100(7): 2292—302.
7. *Savchenko V.G.* Protocol treatment of blood disorders: algorithms and protocols (Programmnoe zabolevanie sistemy krovi: sbornik algoritmov diagnostiki i protokolov lechenija zabolevanij sistemy krovi). Moscow: Practika; 2012: 153—7. (in Russian) [*Савченко В.Г.* Программное заболевание системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Москва: Практика; 2012: 153—7].
8. *Kuzmina L.A., Petinati N.A., Parovichnikova E.N., Lubimova L.S., Gribanova E.O., Gaponova T.V., et al.* Multipotent mesenchymal stromal cells for the prophylaxis of acute graft-versus-host disease — a phase II study. *Stem cells international volume*. 2012. Article ID 968213. <http://www.hindawi.com/journals/sci/2012/968213>.
9. *Trentin J.J.* Mortality and skin transplantability in X-irradiated mice receiving isologous or heterologous bone marrow. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1956; 92(4): 688—93.
10. *Meyl D., Brostoff D., Rot D.V., Roytt A.* Immunologiya (Immunologija). Moscow: Logosfera; 2007: 343—5. (in Russian) [*Мейл Д., Бросттофф Дж., Рот Д.В., Ройтт А.* Иммунология. Пер. с англ. Москва: Логосфера; 2007: 343—5].
11. *Appelbaum F.R., Forman S.J., Negrin R.S., Blume K.G., eds* Thomas' hematopoietic cell transplantation. Oxford, Blackwell Publishing; 2009: 351—3.
12. *Pullen A.M., Kappler J.W., Marrack P.* Tolerance to self antigens shapes the T-cell repertoire. *Immunol. Rev.* 1989; 107(Issue 1): 125—39.
13. *Savchenko V.G., Lyubimova L. S., Parovichnikova E. N., Mendeleeva L. P., Momytyuk K. S., Demidova I. A., et al.* Transplantation of allogeneic and autologous hematopoietic stem cells in acute leukemia: results of 20 years of experience (Transplantacii allogennyh i autologichnyh gemopojeticheskikh stvolovyh kletok pri ostryh lejkozah: itogi 20-letnego opyta), *Terapevticheskiy arkhiv*. 2007; 7: 30—6. (in Russian) [*Савченко В. Г., Любимова Л. С., Паровичникова Е. Н., Менделеева Л. П., Момютюк К. С., Демидова И. А. и др.* Трансплантации аллогенных и аутологичных гемопоэтических стволовых клеток при острых лейкозах (итоги 20-летнего опыта). *Терапевтический архив*. 2007; 7: 30—6].
14. *Kuzmina L.A., Lyubimova L.S., Mendeleeva L.P., Zhelnova E.I., Petinati N. A., Bogdanov R.F., et al.* Extramedullary relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and donor lymphocyte transfusions (Jekstramedulljarnye recidivy posle transplantacii allogennyh gemopojeticheskikh kletok i transfuzij limfocitov donora). *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2011; 3: 191—5. (in Russian) [*Кузьмина Л.А., Любимова Л.С., Менделеева Л.П., Желнова Е.И., Петинати Н. А., Богданов Р. Ф. и др.* Экстрамедуллярные рецидивы после трансплантации аллогенных гемо-
- поэтических клеток и трансфузий лимфоцитов донора. *Клиническая онкогематология*. 2011; 3: 191—5].
15. *Beschorner W.E., Hess A.D., Shinn C.A., Santos G.W.* Transfer of cyclosporine-associated syngeneic graft-versus-host disease by thymocytes. Resemblance to chronic graft-versus-host disease. *Transplantation*. 1988; 45(1): 209—15.
16. *Trzonkowski P., Bieniaszewska M., Juścińska J., Dobyszek A., Krzystyniak A., Marek N., et al.* First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4⁺CD25⁺CD127⁻T regulatory cells. *Clin. Immunol.* 2009; 133(1): 22—6.
17. *Mak T.W.* Immune response basic and clinical principles. Burlington: Elsevier Academic Press; 2005.
18. *Santos G.W., Hess A.D., Vogelsang G.B.* Graft-versus-host reactions and disease. *Immunol. Rev.* 1985; 88(Issue 1): 169—92.
19. *Ho V.T., Soiffer R.J.* The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2001; 98(12): 3192—204.
20. *Schwartz R., Dameshek W.* Drug-induced immunological tolerance. *Nature*. 1959; 183(4676): 1682—3.
21. *Berenbaum M.C., Brown I.N.* Prolongation of homograft survival in mice with single doses of cyclophosphamide. *Nature*. 1963; 200: 84.
22. *Santos G.W., Owens A.H.* Production of graft-versus-host disease in the rat and its treatment with cytotoxic agents. *Nature*. 1966; 210(5032): 139—40.
23. *Mayumi H., Umesue M., Nomoto K.* Cyclophosphamide-induced immunological tolerance: an overview. *Immunobiology*. 1996; 195(2): 129—39.
24. *Maeda T., Eto M., Nishimura Y., Nomoto K., Kong Y.Y., Nomoto K.* Direct evidence for clonal destruction of allo-reactive T cells in the mice treated with cyclophosphamide after allo-priming. *Immunology*. 1993; 78(1): 113—21.
25. *Luznik L., Jalla S., Engstrom L.W., Iannone R., Fuchs E.J.* Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide. *Blood*. 2001; 98(12): 3456—64.
26. *Luznik L., Engstrom L.W., Iannone R., Fuchs E.J.* Posttransplantation cyclophosphamide facilitates engraftment of major histocompatibility complex—identical allogeneic marrow in mice conditioned with low-dose total body irradiation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2002; 8(3): 131—8.
27. *Luznik L., O'Donnell P.V., Symons H.J., Chen A.R., Leffell M.S., Zahurak M., et al.* HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14(6): 641—50.
28. *Kastan M.B., Schlaffer E., Russo J.E., Colvin O.M., Civin C.I., Hilton J.* Direct demonstration of elevated aldehyde dehydrogenase in human hematopoietic progenitor cells *Blood*. 1990; 75(10): 1947—50.

Поступила 04.12.13