

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при ювенильном миеломоноцитарном лейкозе: анализ опыта одного центра и обзор литературы

М.А. Масчан¹, Л.А. Хачатрян¹, Ю.В. Скворцова¹, Е.Е. Курникова², Д.А. Шашелева¹, В.О. Бобрынина¹, Д.Н. Балашов¹, Е.В. Скоробогатова¹, Д.Д. Байдильдина¹, Г.А. Новичкова¹, А.А. Масчан¹

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии

Минздравсоцразвития России, Москва;

²Российская детская клиническая больница, Москва

Контакты: Михаил Александрович Масчан mmaschan@yandex.ru

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТТСК) — стандарт терапии пациентов с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом (ЮММЛ). В статье проанализирован опыт ТТСК в группе 17 пациентов с ЮММЛ. Во всех случаях использовалось миелоаблативное кондиционирование на основе бусульфана (15 пациентов) или треосульфана (2 пациента). Пять трансплантаций выполнены от родственного совместимого донора, 8 — от неродственного донора (2 — пуповинная кровь), 4 — от родственного частично совместимого донора. Первичное приживление достигнуто у 75 % пациентов. Частота острой РТПХ II–IV степени составила 58 %, III–IV степени — 23 %. Частота хронической РТПХ составила 33 %. Рецидив заболевания развился у 5 пациентов. Безрецидивная выживаемость составила 66 ± 12 %. Четыре пациента умерли от осложнений трансплантации. Трансплантационная смертность составила 28 ± 12 %. Пять пациентов умерли от прогрессии основного заболевания. Общая выживаемость составила 38 ± 13 % при медиане наблюдения 13 месяцев. В статье дан обзор основных публикаций, посвященных ТТСК при ЮММЛ.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, трансплантационная смертность, рецидив

Hematopoietic stem cell transplantation in juvenile myelomonocytic leukemia: analyse one centre experience and literature review

M.A. Maschan¹, L.A. Khachatryan¹, Yu.V. Skvortsova¹, E.E. Kurnikova², D.A. Shashcheva¹, V.O. Bobrynnina¹,

D.N. Balashov¹, E.V. Skorobogatova¹, D.D. Baydildina¹, G.A. Novichkova¹, A.A. Maschan¹

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow;

²Russian Children Clinical Hospital, Moscow

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the standard curative therapy for juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). Seventeen patients with JMML received myeloablative conditioning (busulfan-based — 15, treosulfan-based — 2). Donors included 5 matched related siblings, 8 — matched unrelated volunteer or cord blood (2), 4 — mismatched relatives. Primary engraftment was achieved in 75 %. The rate of acute GVHD grade II–IV was 58 %, grade III–IV — 23 %. Chronic GVHD occurred in 33 % of patients. Five JMML relapses occurred. Relapse-free survival is 66 ± 12 %. Four patients died of transplant-related complications. TRM was 28 ± 12 %. Five patients died of disease progression. Overall survival is 38 ± 13 % with median follow-up of 13 months. A review of most important publications related to HSCT in JMML is provided.

Key words: hematopoietic stem cell transplantation, juvenile myelomonocytic leukemia, transplant-related mortality, relapse

Введение

Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ), согласно классификации ВОЗ 2008 г., относят к группе заболеваний, несущих черты миелопролиферативных заболеваний и миелодиспластических синдромов. В основе болезни лежит патологическая активация сигнального пути, ассоциированного с рецептором гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего факто-

ра (ГМ-КСФ), обусловленная, как правило, соматическими мутациями в одном из 5 генов: *PTPN11*, *KRAS*, *NRAS*, *CBL* и *NF1*. До 10 % пациентов в качестве основного генетического события несут герминальную мутацию в гене *NF1*, реже — в других перечисленных выше генах [1, 2].

Клинические проявления ЮММЛ достаточно стереотипны и включают гепатоспленомегалию, лимфаденопатию, полиморфную сыпь, задерж-

ку физического развития, рецидивирующее затяжное течение обычных вирусных и бактериальных инфекций. Характерная лабораторная картина включает лейкоцитоз с развернутой лейкоцитарной формулой, стойкий моноцитоз, анемию и тромбоцитопению. Специфическими биологическими феноменами являются аномальное повышение содержания фетального гемоглобина и гиперчувствительность миелоидных предшественников к ГМ-КСФ *in vitro*. Бластная популяция в периферической крови и костном мозге по определению не превышает 20 %. Трансформация в острый лейкоз возможна, но не характерна для ЮММЛ, однако в естественных условиях заболевание протекает злокачественно и ведет к смерти пациента. Смерть, как правило, обусловлена патологической инфильтрацией легких или инфекционными осложнениями [3].

Высокодозная химиотерапия (ХТ) не изменяет неблагоприятный естественный прогноз заболевания [4, 5]. Единственным методом терапии, приводящим к излечению заболевания, служит трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Лечебный потенциал ТГСК при ЮММЛ был продемонстрирован в конце 70-х годов XX в., однако первое проспективное исследование ТГСК при ЮММЛ было выполнено лишь через 20 лет [6, 7]. Как и при ряде других тяжелых заболеваний, терапевтический потенциал ТГСК оплачен высокой ценой. Трансплантационная смертность, т. е. вероятность смерти от осложнений процедуры трансплантации (TRM, transplant-related mortality), составляет до 20 %, сохраняется риск развития инвалидизирующих поздних осложнений и длительной зависимости от медикаментозной терапии. Противоопухолевая эффективность ТГСК ограничена: вероятность развития рецидива ЮММЛ составляет 30–50 % [8].

В настоящей статье суммирован опыт проведения ТГСК у пациентов с ЮММЛ в Российской детской клинической больнице (РДКБ)/Федеральном научно-клиническом центре детской гематологии, онкологии и иммунологии (ФНКЦ ДГОИ), и проанализированы публикации, посвященные данной теме.

Материалы и методы

В исследование включены 17 пациентов с ЮММЛ (13 мальчиков и 4 девочки), трансплантированных в отделении трансплантации костного мозга РДКБ в период с 2003 по 2010 г. Всего выполнено 23 ТГСК (17 — первичных, 6 — повторных). Диагноз был установлен в соответствии с международными критериями (табл. 1). Всем пациентам ретроспективно выполнено молекулярно-генетическое исследование генов *PTPN11*, *NRAS*, *KRAS* и *CBL*, у 11 пациентов диагноз верифицирован. Двум пациентам установлен клинический диагноз нейрофиброматоз I типа (NF1).

Медиана возраста на момент диагноза составила 18 месяцев. Медиана интервала диагноз — транс-

Таблица 1. Критерии диагностики ЮММЛ [2]

I. Обязательные клинические и гематологические критерии	• Содержание моноцитов $ПК > 1,0 \times 10^9/л$ • Содержание бластов в крови и КМ $< 20\%$ • Спленомегалия • Отсутствие Ph-хромосомы или <i>BCR-ABL</i> транскрипта
II. Обязательные клинические и гематологические критерии	• Соматическая мутация генов <i>PTPN11</i> или <i>RAS</i>, или <i>CBL</i> • Мутация гена <i>NF1</i> или клинический диагноз нейрофиброматоза I типа • Моносомия 7
III. Дополнительные лабораторные критерии	• Спонтанный рост гранулоцитарно-макрофагальных колоний из мононуклеаров ПК или гиперчувствительность к ГМ-КСФ • Повышенное содержание гемоглобина F • Циркуляция незрелых гранулоцитов в ПК • Лейкоцитоз $> 10 \times 10^9/л$ • Клональная цитогенетическая аномалия, отличная от моносомии 7

Диагностическое правило: необходимо выполнение всех критериев группы I и одного из критериев группы II. При отсутствии критериев группы II необходимо выполнение двух критериев группы III.

плантация составила 12,2 (2,1–39,3) месяцев, медиана возраста на момент трансплантации — 3,7 (1,3–5,3) года. Медиана наблюдения составила 13 (0,5–82) месяцев. Детальная исходная клинико-лабораторная характеристика группы представлена в табл. 2.

Терапия до трансплантации. Все пациенты до трансплантации получали ХТ. Пять пациентов получали только дифференцировочную терапию: 13-цис-ретиноевая кислота в дозе 100 мг/м²/сутки ежедневно (Роаккутан, Хоффман-Ля Рош) и низкие дозы цитозин-арабинозида (20 мг/м²/сутки, 10 дней каждого месяца). Пять пациентов получали только высокодозную ХТ. Семь пациентов получали оба варианта терапии. Высокодозная терапия включала курсы FLAM (флударабин 30 мг/м²/сут № 5, цитозин-арабинозид 2000 мг/м²/сут № 5, митоксантрон 10 мг/м² № 3) у 9 пациентов и курсы ADE (цитозин-арабинозид 200 мг/м²/сут № 7, этопозид 150 мг/м² № 3, даунорубин 45 мг/м² № 3) у 3 пациентов. Четверем пациентам до трансплантации была выполнена спленэктомия.

Статус на момент трансплантации. На момент начала кондиционирования у 9 пациентов статус болезни оценивался как «стабильное заболевание», у 8 пациентов — как «активное заболевание». «Стабильное заболевание» определялось как отсутствие клинических и лабораторных признаков ЮММЛ, за исключением моноцитоза и спленомегалии не более 2 см из-под ребра.

Таблица 2. Клинико-лабораторная характеристика группы пациентов с ЮММЛ (на момент установления диагноза)

	Пол	Возраст, лет ¹	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Моноциты		Незрелые гранулоциты ² , кровь, %	Бласты к. м., %	HbF, %	ГМ-колонии ³	Ген	NF ⁴
					%	абс., $\times 10^9/\text{л}$						
1	М	1,2	10	27	16	1,6	2	1	5	+	NRAS	—
2	Ж	5,1	29	104	16	4,7	23	7,5	44	+	—	—
3	М	2,6	107	23	1	1,2	18	1,2	21	+	PTPN11	—
4	М	0,9	22	19	44	9,6	5	3,2	19	+	—	—
5	М	3,0	33	62	15	4,9	4	1,6	38	+	PTPN11	—
6	М	1,5	39	116	19	7,5	13	3,6	но ⁵	+	PTPN11	—
7	Ж	1,3	29	197	20	5,9	5	7	8	+	NRAS	—
8	Ж	0,7	58	123	33	19,3	10	11,2	9	+	—	+
9	М	0,9	80	51	15	12,0	16	3	11	+	KRAS	—
10	М	3,8	11	5	11	1,2	29	10	53	+	PTPN11	—
11	Ж	4,1	36	17	4	1,4	27	5,6	36	—	PTPN11	—
12	М	4,6	46	42	13	6,0	11	20	0,4	но	—	—
13	М	0,2	63	92	49	31,0	3	2	48	+	—	+
14	М	4,5	40	71	33	13,0	21	2,5	но	но	—	—
15	М	3,4	42	4	33	14,0	9	8	3	—	PTPN11	—
16	М	1,0	25	150	21	5,2	9	18,4	9	—	CBL	—
17	М	1,4	4,2	27	39	1,6	1	9,6	2	—	KRAS	—
медиана		1,5	37,5	56	19	5,9	10,5	4,6	15			

¹возраст на момент установления диагноза;²Σ про-, миело-, метамиелоциты, палочкоядерные нейтрофилы;³спонтанный рост гранулоцитарно-макрофагальных колоний из ПК;⁴клинический диагноз нейрофиброматоза;⁵но — не определяли.

Характеристика трансплантата. Пять пациентов трансплантированы от родственного совместимого донора (MSD), в 3 случаях источником стволовых клеток был костный мозг (КМ), в 1 — периферическая кровь (ПК), еще в 1 — пуповинная кровь (СВ). Шесть пациентов трансплантированы от неродственного совместимого донора (MUD) (HLA-совместимость 10/10 — 4 пациента, 9/10 — 2), в 3 случаях источником стволовых клеток был КМ, в 3 — ПК. В 2 случаях трансплантат был представлен двумя образцами неродственной СВ (HLA-совместимость 9/10 и 8/10). Четырем пациентам выполнена трансплантация от родственного частично совместимого донора (MMRD), в 3 случаях (гаплоидентичный донор, HLA-совместимость 5/10 — 2 пациента, 7/10 — 1) источником стволовых клеток явилась ПК, подвергнутая иммуномагнитной деpleции CD3/CD19 на приборе CliniMACS, Miltenyi Biotec, Германия, в 1 случае (донор — мать, совместимость 9/10) трансплантирован нативный КМ. Иммуномагнитная селекция выполнялась в соответствии с рекомендацией производителя.

Кондиционирование. Все пациенты получили миелоаблативное химиотерапевтическое кондициони-

рование. Пятнадцать пациентов получили в качестве базового компонента кондиционирования бусульфан (Bu), 2 пациента — треосульфат (Treо). Четыре пациента получили кондиционирование бусульфана/циклофосфамида/мелфалана (Bu/Cy/Mel). Восемь пациентов — бусульфана/флударабина/мелфалана (Bu/Flu/Mel). Пациенты, трансплантированные от неродственного или гаплоидентичного донора, получили в составе кондиционирования дополнительную иммуносупрессию антилимфоцитарным глобулином. Детали кондиционирования приведены в табл. 3.

Состав трансплантата. Медиана дозы нуклеарных клеток составила $5,8 \times 10^8/\text{кг}$ (0,05–22) массы тела реципиента. При гаплоидентичной трансплантации доза CD34⁺ клеток составила $13 (4,7–16) \times 10^6/\text{кг}$, CD3⁺ — $10 (4,8–51) \times 10^4/\text{кг}$ и CD20⁺ — $3 (1,4–12,8) \times 10^4/\text{кг}$.

Профилактика и терапия реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Профилактика РТПХ после родственной совместимой трансплантации проводилась циклоспорином А (CsA) (монотерапия — 3, в комбинации с метотрексатом (Mtx) — 1, с мофетила микофенолатом (MMF) — 1). Профи-

лактика РТПХ после MUD трансплантации проводилась комбинацией ингибитора кальциневрина (CsA — 1, такролимус — 7) и Mtx (1 пациент) либо MMF (6 пациентов). Профилактика РТПХ после гаплоидентичной трансплантации проводилась CsA у 2 пациентов, получивших более 5×10^4 CD3⁺ клеток на кг массы тела. Терапия 1-й линии острой РТПХ (о. РТПХ) проводилась метилпреднизолоном в стартовой дозе 2 мг/кг/сутки (см. табл. 3).

Профилактика и терапия инфекций и ранних осложнений. Все пациенты получали терапию в боксах с ламинарным потоком воздуха и НЕРА-фильтрацией. Профилактика инфекционных осложнений включала ципрофлоксацин, флуконазол и ацикловир. Контроль цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ) основывался на еженедельном мониторинге вирусной ДНК в крови методом ПЦР и упреждающей терапии ганцикловиром при 1-крат-

Таблица 3. Характеристики и результаты ТГСК в группе пациентов с ЮММЛ

	Возраст, лет	Интервал ¹ , мес	Терапия ² до ТГСК	Донор ²	Источник ГСЛ ⁴	Доза нуклеарных клеток, $\times 10^8$ /кг	Кондиционирование ⁵	Профилактика РТПХ ⁶	Прижизненное, день	о. РТПХ	Рецидив, дней от ТГСК	Исход ⁷ (время от ТГСК, мес)	Причина смерти
1	2,5	17,8	2,1	UCB	2×CB	2,5	Treo42/Mel100/Flu150Atgam90	Tac/MMF	22	1	—	10,6+	—
6	2,9	17,7	1, 2, 3	UCB	2×CB	1,6	Bu20/Cyl20/Thy10	Tac/MMF	0	—	+ 58	†12,9	ЮММЛ
2	5,3	3,3	2	MUD	КМ		Bu16/Mel100/Thy7	Tac/pred	12	2	—	†0,5	сепсис
4	1,3	4,6	2,1	MUD	ПК	10	Bu16/Mel140/Cyl20/ATG-F40	CsA/MMF/Mtx	15	2	—	82,2+	—
7	4,3	36,2	1	MUD	КМ	10	Bu*19/Mel140/Flu150/Thy10	Tac/MMF	16	4	—	†3,9	ЦМВ/РТПХ
9	1,9	12,2	1	MUD	ПК	22	Bu16/Mel140/Cyl20/Atgam90	CsA/MMF	14	2	—	64,9+	—
16	4,3	39,3	1	MUD	КМ	6	Bu16/Mel140/Flu150/Thy10	Tac/MMF	19	4	—	†1,1	РТПХ
17	3,0	17,0	2,1	MUD	ПК	5	Bu16/Mel140/Flu150/Atgam90	Tac/MMF	23	2	—	2,9+	—
8	2,4	20,5	1,2	MMRD	ПК (TCD)	11	Bu*19/Mel140/Flu150/Thy5	CsA	0	—	—	†14,3	ЦМВ
5	4,2	14,1	2,3	MMRD	ПК (TCD)	3,2	FLAM/Bu16/Mel100/Atgam60	CsA	13	0	+ 49	†14,3	ЮММЛ
12	5,3	8,4	2,3	MMRD	ПК (TCD)	2,3	FLAM/Bu16/Mel100/Thy6	Her	0	—	—	35,3+	—
11	4,5	4,7	2	MMRD	КМ	5,6	Bu*19/Mel140/Flu150/Thy5	CsA/MMF	15	1	—	27,0+	—
3	2,8	2,1	1	MSD	КМ	7,8	Bu16/Mel140/Cyl20	CsA/MMF	32	0	+ 116	†12,3	ЮММЛ
13	2,7	30,0	1,2	MSD	CB	0,05	Bu16/Mel140/Cyl20	CsA	0	—	+ 46	†17,1	ЮММЛ
14	5,2	8,3	1,2	MSD	КМ	3,1	Treo42/Mel100/Flu150	CsA	18	2	—	11,2+	—
15	3,7	4,0	1,3	MSD	КМ	12	Bu16/Mel140/Flu150	CsA	8	2	—	35,5+	—
10	4,3	6,8	2	MSD	ПК	19	Bu16/Cyl20/Vp500	CsA/Mtx	19	0	+ 48	†4,3	ЮММЛ
медиана	3,7	12,2				5,8			16				

¹интервал от даты установления диагноза до даты трансплантации;

²1 — терапия низкими дозами цитарабина и 13-цис-ретиноевой кислотой; 2 — высокодозная ХТ (FLAM, etc.); 3 — спленэктомия;

³UCB — неродственная пуповинная кровь, MSD — совместимый сиблинг, MUD — неродственный совместимый донор, MMRD — родственник частично совместимый донор;

⁴CB — пуповинная кровь, TCD — деплеция Т-клеток;

⁵Treo — треосульфан, Mel — мелфалан, Flu — флударабин, Bu — бусульфид, Thy — тимоглобулин, Cy — циклофосфамид, ATG-F — АТГ-Фрезениус, VP — этопозид, FLAM — флударабин/цитарабин/митоксантрон, Bu* — бусульфид для внутривенного введения, Atgam — атгам. Дозы бусульфона, циклофосфамида указаны в мг/кг, треосульфана — г/кг, мелфалана, флударабина, этопозид — в мг/м²;

⁶Tac — такролимус, доза 0,015–0,03 мг/кг/сутки; CsA — циклоспорин А, доза 1 мг/кг/сутки; MMF — микофенолата мофетил, доза 20 мг/кг/сутки, Mtx — метотрексат, доза 15 мг/м² день + 3, 10 мг/м² — день + 6, + 11;

⁷† — умер, + — жив.

ном (неродственный или частично совместимый донор) либо 2-кратном (родственный совместимый донор) выявлении ДНК ЦМВ. Профилактика вено-окклюзивной болезни (ВОБ) печени проводилась гепарином в дозе 100 Ед/кг/сутки. Профилактика геморрагического цистита — меркаптоэтансульфонатом (Уромитексан).

Днем приживления считался первый из 3 последовательных дней с уровнем лейкоцитов $> 1.0 \times 10^9/\text{л}$. Диагностика и клиническое стадирование о. и хронической РТПХ (х. РТПХ) и ВОБ печени осуществлялись на основании международных критериев. Частота развития о. РТПХ оценивалась у 17 пациентов (13 — после первой трансплантации, 4 — после 2-й трансплантации). Частота развития х. РТПХ оценивалась у 15 пациентов, продолжительность жизни которых после приживления составила более 100 дней.

Анализ гемопоэтического химеризма. Определение доли собственных клеток реципиента в крови после ТГСК проводилось с использованием коммерческого набора для определения донорского химеризма производства ООО «Центр медицинской генетики». Полный донорский химеризм констатировался при выявлении $> 98\%$ донорских клеток в образце. Выделение клеточных линий для исследования линейного химеризма осуществлялось иммуномагнитными реагентами Dynabeads®, Invitrogen Dynal AS, США.

Статистический анализ

Статистический анализ выполнен в программах Statistica 7.0, StatSoft и GraphPad InStat. Функция выживаемости и кумулятивная вероятность анализируемого события рассчитана по методу Каплана–Майера. Пациенты, живущие в ремиссии на момент анализа данных, цензурированы 01.01.2011. Сравнение медиан выполнено при помощи теста Манна–Уитни, сравнение разности долей — при помощи точного теста Fisher. При анализе факторов прогноза сравнение функции выживаемости выполнялось при помощи log-rank теста. При анализе метрических переменных формировали 2 группы по отношению к медиане ($1 - \leq$, $2 - >$). Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты трансплантации

Приживление. Первичное приживление достигнуто у 13 пациентов. Медиана восстановления нейтрофилов составила 16 (8–32) дней. Четверем пациентам с первичной недостаточностью трансплантата была выполнена 2-я трансплантация. Медиана выполнения 2-й трансплантации составила 128 (54–292) дней. Приживление после 2-й ТГСК достигнуто у всех пациентов с медианой восстановления гемопоэза 13 (12–16) дней. Таким образом, кумулятивная вероятность первичного приживления

составила $76,5 \pm 10\%$, финального приживления — 100 % (рис. 1).

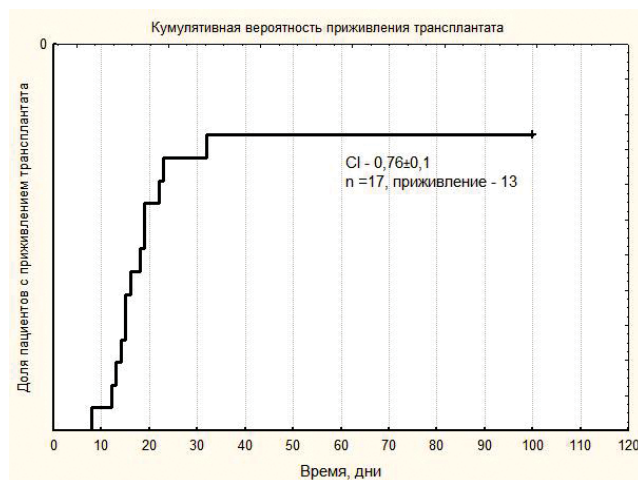


Рис. 1. Кумулятивная вероятность приживления трансплантата

О. РТПХ. О. РТПХ II–IV степени развилась после первой трансплантации у 10 (58%) пациентов, III–IV степени — у 3 (23%) пациентов. У 2 пациентов о. РТПХ стала основной причиной смерти.

Химеризм. Систематический мониторинг гемопоэтического химеризма проводился у 13 пациентов. У 4 пациентов зарегистрирован смешанный химеризм на сроках 38 (16–116) дней. Во всех случаях была отменена профилактическая иммуносупрессия и выполнена инфузия нативных донорских лимфоцитов (DLI). В результате иммунологического вмешательства у 2 пациентов зарегистрировано развитие клиники о. РТПХ. У 1 пациента произошло восстановление полного донорского химеризма, сохранение гематологической ремиссии и формирование экстенсивной х. РТПХ. В 1 случае достигнуто временное восстановление донорского химеризма и развитие развернутого рецидива через 180 дней от детекции смешанного химеризма. В 2 случаях, несмотря на DLI, развился гематологический рецидив.

Х. РТПХ. Диагноз х. РТПХ установлен у 4 из 12 пациентов (33%); экстенсивная форма х. РТПХ — у 3 пациентов. У 1 пациента развитие х. РТПХ сопровождало DLI. Среди пациентов с продолжающейся ремиссией доля пациентов с х. РТПХ составила 57 % (4 из 7), среди пациентов с рецидивом — 0 % (0 из 5), $p = 0,08$.

Рецидивы. Гематологический рецидив развился у 5 пациентов. Медиана развития рецидива ЮММЛ составила 49 (46–116) дней от даты 1-й трансплантации. Безрецидивная выживаемость (БРВ) составила $66 \pm 12\%$ (рис. 2). Три пациента в качестве терапии рецидива получили ТГСК от исходного (1 больной) или альтернативного (2 больных) донора. Два пациента получали ХТ и иммунотерапию (DLI и интерлейкин-2). Все рецидивировавшие пациенты умерли от прогрессии заболевания.

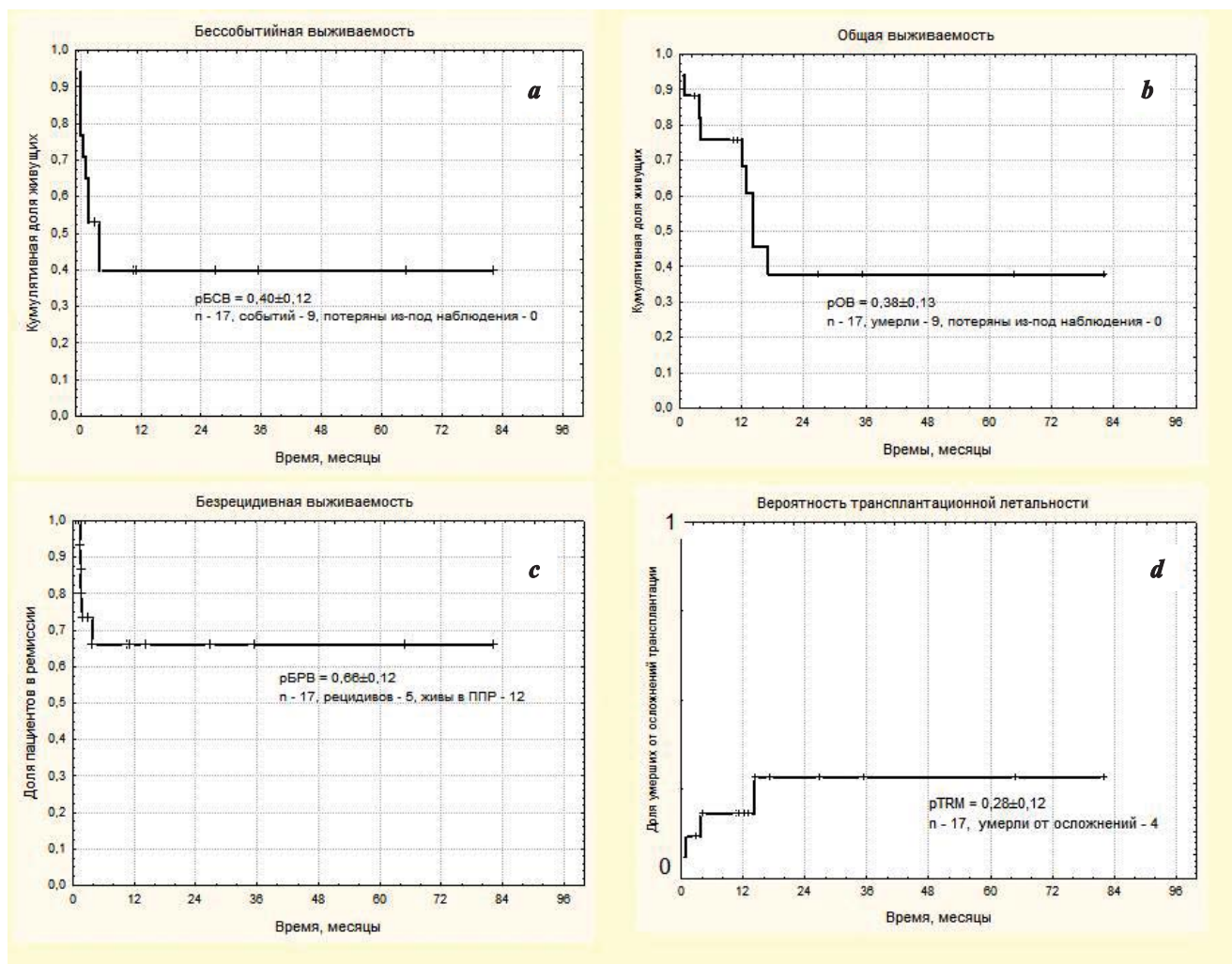


Рис. 2. Выживаемость после рецидива

Вторая трансплантация. Шести пациентам была выполнена 2-я трансплантация. Четырем пациентам в связи с первичным неприживлением, 2 пациентам в связи с рецидивом лейкоза. В 2 случаях трансплантация выполнена от исходного донора. В 4 случаях от альтернативного донора (2 — MUD, 2 — MMRD). В 5 случаях проведено миелоаблативное кондиционирование. Приживление достигнуто у 4 пациентов. Четыре из 6 пациентов умерли от прогрессии заболевания, 1 — от поздней (14 месяцев) ЦМВ-инфекции. Один пациент жив на сроке наблюдения 35 месяцев с экстенсивной х. РТПХ.

Выживаемость и структура летальности. На момент анализа данных живы и находятся в полной клинико-гематологической ремиссии 8 пациентов с медианой наблюдения 31 (2,9–82) мес. Четыре пациента умерли от причин, связанных с трансплантацией (1 — о. РТПХ (день +32), 1 — ЦМВ-инфекция/о. РТПХ (день +118), 1 — ЦМВ-инфекция (день +429), 1 — сепсис/полиорганная недостаточность (день +16)). Трансплантационная смертность составила $28 \pm 12\%$. Пять пациентов умерли от прогрессии основного заболевания. Об-

щая выживаемость (ОВ) составила $38 \pm 13\%$. Бессобытийная выживаемость (БСВ) составила $40 \pm 12\%$ (см. рис. 2).

Анализ потенциальных факторов риска. При анализе потенциальных факторов прогноза выживаемости исследованы следующие показатели: возраст на момент ТГСК, возраст на момент начала заболевания, интервал диагноз — ТГСК, исходные лабораторные показатели, предшествующая терапия, статус заболевания на момент трансплантации, кондиционирование, профилактика РТПХ, тип донора, наличие о./х. РТПХ, клеточность трансплантата, генетический вариант ЮММЛ. Статистически достоверно показано неблагоприятное прогностическое значение высокого содержания тромбоцитов и низкого содержания лактатдегидрогеназы (ЛДГ) на момент установления диагноза (см. табл. 4).

Обсуждение и обзор литературы

ОВ в нашем исследовании несколько уступает результатам крупных исследований, в первую очередь за счет высокой трансплантационной смертности. Также обращает внимание высокая

Таблица 4. Анализ прогностических факторов

Показатель	pEFS	Log-rank, p
Возраст (диагноз), мес		
≤ 18	0,41 ± 0,17	0,94
> 18	0,37 ± 0,17	
Возраст (диагноз), мес		
≤ 47	0,53 ± 0,17	0,34
> 47	0,25 ± 0,15	
Лейкоциты × 10 ⁹ /л, диагноз		
≤ 37,5	0,42 ± 0,17	0,59
> 37,5	0,27 ± 0,16	
Моноциты × 10 ⁹ /л, диагноз		
≤ 5,9	0,50 ± 0,17	0,81
> 5,9	0,37 ± 0,17	
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л, диагноз		
≤ 56,5	0,64 ± 0,16	0,027
> 56,5	0,12 ± 0,11	
Бласты, КМ, %, диагноз		
≤ 4,6	0,50 ± 0,17	0,42
> 4,6	0,29 ± 0,16	
ЛДГ, МЕ/л, диагноз		
≤ 365	0,11 ± 0,10	0,016
> 365	0,75 ± 0,15	
HbF, %, диагноз		
≤ 15	0,46 ± 0,18	0,51
> 15	0,28 ± 0,17	
Статус болезни, ТГСК		
стабильное	0,51 ± 0,17	0,14
прогрессия	0,25 ± 0,15	
Донор		
MUD\MSD	0,47 ± 0,14	0,17
MMRD\UCB	0,20 ± 0,17	
MUD	0,44 ± 0,22	0,8
MSD	0,40 ± 0,21	
Терапия до ТКМ		
высокодозная	0,42 ± 0,14	0,62
низкодозная	0,40 ± 0,10	
Интервал диагноз – ТГСК, мес		
≤ 12,2	0,55 ± 0,16	0,17
> 12,2	0,18 ± 0,15	
Кондиционирование		
Bu/Mel/Flu	0,48 ± 0,16	0,37
другое	0,28 ± 0,17	
Профилактика РТПХ		
tacro	0,25 ± 0,20	0,45
CsA	0,50 ± 0,15	
о. РТПХ		
0–1-й степени	0,40 ± 0,21	0,56
2–4-й степени	0,60 ± 0,18	
х. РТПХ		
да	0,75 ± 0,21	0,27
нет	0,37 ± 0,17	
Генетический дефект		
RAS	0,53 ± 0,24	0,42
PTPN11	0,33 ± 0,19	
Пол		
М	0,44 ± 0,14	0,18
Ж	0,25 ± 0,21	

частота неприживления, обусловленная, очевидно, характеристиками трансплантата: во всех случаях трансплантат был представлен источниками ГСК, по определению ассоциированными с большим риском неприживления: СВ (2 пациента), либо Т-деплементированными ПК от MMRD (2 пациента), кроме того, в двух случаях имела место недостаточная клеточность трансплантата. Основной причиной неудач, как и во всех опубликованных работах, остаются рецидивы ЮММЛ.

Анализ литературы, посвященной проблеме ТГСК при ЮММЛ, показывает ситуацию, характерную для многих редких болезней: существенная доля актуальной информации получена в результате небольших ретроспективных исследований и описания клинических случаев. В этой связи многие позиции получают лишь косвенное обоснование и, в ряде случаев, не имеют шансов на получение доказательств высокой степени достоверности. Результаты наиболее значимых исследований суммированы в табл. 5 [6, 8–17].

Первая успешная трансплантация КМ пациенту с ЮММЛ была выполнена в 1976 г. в Сизтле. В 1988 г. опубликованы результаты первого группового наблюдения, которые в значительной мере определили круг проблем на 10-летие вперед [7, 15]. Наиболее значительный результат первых опытов — доказательство принципиальной возможности излечения ЮММЛ и утверждение ТГСК как единственного эффективного метода терапии. Эти положения остаются неизменными и сегодня. Предтрансплантационная подготовка была основана на тотальном терапевтическом облучении (ТТО), профилактика РТПХ — на применении Mtx или комбинации CsA и короткого курса Mtx. Основными причинами неудач стали рецидивы заболевания и смерть от инфекционных и неинфекционных поражений легких. Успех трансплантации оказался возможен как при использовании MSD, так и при пересадке от MMRD. В отдаленной перспективе у пациентов, находящихся в длительной ремиссии, отмечено развитие катаракт и задержка роста как осложнения ТТО.

В ретроспективных исследованиях P. Lutz, J. Donadieu, F. Locatelli, N. Bunin был подтвержден терапевтический потенциал трансплантации, показана возможность успешной трансплантации от MUD, высокий риск рецидива заболевания после трансплантации и неудач при ТГСК от MMRD [8–10, 12]. Практические аспекты трансплантации при ЮММЛ традиционно включают такие вопросы, как выбор режима кондиционирования, выбор донора и источника ГСК, оптимальный срок выполнения трансплантации, роль предтрансплантационной ХТ и спленэктомии, тактика посттрансплантационного мониторинга и терапии рецидивов заболевания.

Таблица 5. ТГСК при ЮММЛ: обзор публикаций

Исследование	n	Кондицио- нирование ¹	Донор ²			EFS ³ , %	TRM ⁴ , %	Рецидивы, %	Заключение
			MSD	MUD	MMRD				
Sanders, 1988	14	TTO — 14	6	—	8	33	28	21	Установлен терапевтический потенциал ТГСК от MSD и MMRD. Поздние осложнения TTO
Lutz, 1996	18	TTO — 12, Bu — 6	?	?	?	61	?	?	ТГСК от MUD эффективны
Donadieu, 1994	12	TTO — 6, Bu — 6	6	1	5	42	8	50	ТГСК от MMRD — высокий риск неудачи
Locatelli, 1997	43	TTO — 22, Bu — 21	25	14	4	31	20	51	ТГСК от MSD — метод выбора. MUD/MMRD — ↑риск TRM. Bu имеет преимущество в сравнении с TTO в группе MSD
						MSD — 38	9		
						MUD/ MMRD — 22	46		
Bunin, 1999	12	TTO — 11, Bu — 1	—	9	3	64	16	16	ТГСК от MUD с T-деплецией эффективна. TTO обеспечивает иммуносупрессию
Matthes-Martin, 2000	11	TTO — 5, Bu — 6	4	6	1	54	36	9	Трансплантация от альтернативных доноров сопряжена с высоким риском TRM
Manabe, 2002	27	TTO — 18, Bu — 9	12	10	4	54	11	26	Дети до 1 года — EFS = 100 %. Нет различий между MSD и альтернативными донорами. Цитогенетические аномалии — фактор неблагоприятного прогноза
Yusuf, 2004	32	?	?	?	?	33	?	39	Данные пациентов с ЮММЛ анализируются в массиве данных пациентов с МДС (n = 94)
Korthof, 2005	23	TTO — 14, Bu — 9	11	9	3	48	21	34	Интенсивная предтрансплантационная ХТ и T-деплеция — факторы неблагоприятного прогноза
Locatelli, 2005	100	Bu/Mel/Cy — 100	48	52	—	52	13	35	Результаты ТГСК от MUD практически идентичны MSD. Женский пол и возраст < 4 лет — факторы неблагоприятного прогноза
Yabe, 2008	10	Bu/Mel/Flu — 10	3	6 (CB — 3)	1	70	—	30	Bu/Mel/Flu достаточно для приживления неродственной ПК
Масчан, 2010	17	Bu/Mel/Flu — 8, Bu/Mel/Cy — 4, Treo/Mel/Flu — 2	5	8 (CB — 2)	4	40	28	29	

¹TTO — тотальное терапевтическое облучение, Treo — треосульфан, Mel — мелфалан, Flu — флударабин, Bu — бусульфан, Thymo — тимоглобулин, Cy — циклофосфамид;²MSD — совместимый сиблинг, MUD — неродственный совместимый донор, MMRD — родственный частично совместимый донор;³EFS — бессобытийная выживаемость;⁴TRM — смертность, ассоциированная с процедурой трансплантации (Treatment-related mortality).

Режим кондиционирования

Исторически предтрансплантационная миелоабляция и иммуносупрессия при ЮММЛ были основаны на применении ТТО в дозе 12 Гр в комбинации с циклофосфамидом. Несмотря на адекватное решение проблемы приживления и, у части пациентов, долгосрочного контроля опухоли, поздние осложнения лучевой терапии, такие как задержка роста, эндокринопатии, катаракты и вторичные опухоли, особенно выраженные у детей раннего возраста, обусловили необходимость применения альтернативных режимов кондиционирования [15]. В большинстве центров в 90-х годах XX в. ТТО-содержащие режимы применяли наравне с режимами, основанными на Bu/Cy в комбинации с препаратами, используемыми в терапии острого миелобластного лейкоза, такими как этопозид и цитозин-арабинозид. Ретроспективный анализ F. Locatelli et al. показал существенное преимущество химиотерапевтических режимов в сравнении с ТТО при трансплантации от родственных доноров, в первую очередь в отношении риска развития рецидивов [8]. В наиболее крупном современном мультицентровом исследовании EWOG-MDS, включавшем 100 пациентов, использовался режим Bu — 16–20 мг/кг, Mel — 140 мг/м², Cy — 120 мг/кг. Результаты этого исследования с показателем ОВ = 52 % и TRM = 13 % позволяют считать данный режим стандартом кондиционирования при ЮММЛ [6]. Заслуживает внимания опыт применения флударабина в качестве основного иммуносупрессивного компонента: в исследовании M. Yabe применялся режим Bu/Mel/Flu, общая выживаемость составила 70 % при фактическом отсутствии TRM [16]. Традиционно при ЮММЛ клиницисты делают ставку на максимально интенсивное кондиционирование, мотивируя данную тактику необходимостью эрадикации примитивных лейкоэмических стволовых клеток. Принципиальные контраргументы базируются на сохранении высокой частоты рецидивов при используемых в настоящее время высокоинтенсивных подходах и данных о возможной роли реакции «трансплантат против лейкемии» (РТПЛ) в контроле заболевания после трансплантации [18–20]. Тестирование режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью — вопрос будущих исследований, и в настоящее время применение субмиелоаблативного кондиционирования должно быть оправдано либо условиями клинического исследования, либо особенностями соматического статуса пациента.

В настоящем исследовании все пациенты получили миелоаблативное кондиционирование на базе бусульфана (14 пациентов) или треосульфана (2 пациента). Анализ влияния кондиционирования на результаты терапии не выявил значимых различий, что может быть обусловлено ограниченным объемом выборки. Следует лишь отметить, что непосред-

ственная висцеральная токсичность кондиционирования была умеренной и явилась причиной смерти у 1 пациента.

Выбор трансплантата

Традиционно стандартом ТГСК при ЮММЛ является трансплантация от MSD. Первый опыт использования MUD был сопряжен с высокой смертностью от осложнений, однако в эпоху молекулярного HLA-типирования высокого разрешения общие результаты трансплантаций от родственных и неродственных совместимых доноров фактически сравнялись [6]. Более высокая смертность, ассоциированная с трансплантацией, сопровождается меньшей частотой рецидивов при трансплантациях от MUD. В нашей работе, ввиду малого числа наблюдений, статистически достоверно подтвердить эти положения невозможно, однако при качественном анализе видно, что доля рецидивов в группе MSD выше, а все смерти от токсичности произошли в группах MUD и MMRD. Неразрешенным вопросом остается целесообразность использования MMRD с T-деплецией и UCB. Общее число опубликованных наблюдений в мире не позволяет делать окончательные выводы о приемлемости данных источников стволовых кроветворных клеток для ТГСК при ЮММЛ. Наш опыт указывает на более высокий риск неприживления трансплантата и рецидива ЮММЛ, однако мы полагаем, что до появления результатов клинических исследований использование альтернативных источников допустимо в соответствии с клинической ситуацией.

Показания к трансплантации и тайминг

Подавляющее большинство исследователей согласно с положением, что ЮММЛ является абсолютным показанием к аллогенной ТГСК. Несмотря на консенсус, необходимо принимать во внимание тот факт, что в силу биологической гетерогенности заболевания существует небольшая доля пациентов с относительно благоприятным среднесрочным прогнозом. Это пациенты первого года жизни с низким содержанием фетального гемоглобина. В этой группе амбулаторная терапия низкими дозами цитарабина в комбинации с изотретиноином позволяет достигать длительных клинико-гематологических ремиссий с хорошим качеством жизни [21]. Для таких пациентов решение о выполнении трансплантации от MUD/MMRD, ассоциированное с 10–20 % риском смерти от осложнений, является непростым для врача и семьи пациента. Необходимость трансплантации поддерживается нашим наблюдением случая развития острого лимфобластного лейкоза у пациента через 8 лет после «излечения» от ЮММЛ [22].

В ряде работ указывалось, что интервал до выполнения трансплантации служит неблагоприятным прогностическим фактором, однако в более крупных исследованиях это положение подтверждено не

было. В нашем исследовании различия в исходе лечения в зависимости от срока выполнения трансплантации также не были выявлены.

Предтрансплантационная ХТ

Исторически большинство пациентов с ЮММЛ до выполнения трансплантации получали ХТ согласно программам лечения острых миелобластных лейкозов. С конца 1980-х годов известно, что интенсивная ХТ позволяет добиться клинико-гематологической ремиссии у части пациентов и продляет жизнь [5]. Известно также, что излечение ЮММЛ с помощью стандартной ХТ невозможно. В настоящее время большинство трансплантационных центров в Европе и Японии отказалось от проведения предтрансплантационной высокодозной терапии на основании данных, указывающих на отсутствие влияния (либо негативное влияние) такой терапии на результаты трансплантации [6, 11]. Результаты крупного североамериканского исследования, в котором пациенты получали терапию ингибитором фarnезилтрансферазы (типифарниб) и 2 курса FLAM перед трансплантацией, опубликованы не были, несмотря на завершение набора пациентов в 2005 г. Следует подчеркнуть, что проблема роли предтрансплантационной ХТ никогда не была (и, вероятно, не будет) исследована проспективно и выводы, сделанные на основании неконтролируемых исследований, следует воспринимать с осторожностью. Мы полагаем, что рутинное применение высокодозной ХТ нецелесообразно, однако считаем, что при неконтролируемой миелопролиферации такая терапия может стать единственной возможностью обеспечить дожитие пациента до трансплантации и должна быть зарезервирована для таких клинических ситуаций.

Спленэктомия до ТГСК

Удаление или облучение селезенки до ТГСК постулированы как дополнительные методы уменьшения массы опухоли перед трансплантацией [12]. Риски спленэктомии у детей раннего возраста известны и складываются из незначительного операционного риска и продленного (пожизненного?) риска фульминантного постспленэктомического сепсиса. В единственном проспективном исследовании позитивная роль спленэктомии при ЮММЛ не была подтверждена [6]. С этими выводами согласуются и наши результаты. Спленэктомия остается клинической опцией для пациентов с массивной спленомегалией и рефрактерностью к гемотрансфузиям, обусловленной гиперспленизмом.

Мониторинг химеризма и тактика посттрансплантационной иммуноинтервенции

Основной проблемой трансплантации при ЮММЛ остается высокая частота рецидивов, которые, как правило, развиваются на ранних сроках по-

сле пересадки. В нашем исследовании медиана срока рецидива составила менее 2 месяцев. Логичным шагом представляется попытка раннего выявления рецидива на основании мониторинга гемопоэтического химеризма или минимальной резидуальной болезни (МРБ) и вмешательство в виде редукции/отмены иммуносупрессии или инфузии донорских лимфоцитов. Технически контроль химеризма при ЮММЛ не отличается от аналогичных методов при других гемобластозах. Анализ химеризма в компартменте гемопоэтических предшественников может увеличивать чувствительность метода, однако практическая польза этого усовершенствования не доказана. Контроль МРБ может осуществляться при помощи детекции мутантных аллелей *PTPN11* и *RAS* [23]. Опыт терапевтического вмешательства на основании химеризма/МРБ при ЮММЛ незначителен, а опубликованных данных практически нет.

В нашей работе была показана принципиальная возможность сохранения ремиссии у пациента после отмены иммуносупрессивной терапии и проведения DLI в момент детекции смешанного химеризма в CD34⁺ клетках. В 3 случаях отмена иммуносупрессивной терапии и инфузии донорских лимфоцитов была неэффективна. Очевидно, что эффект РТПЛ в отношении ЮММЛ не является столь же надежным инструментом, как при хроническом миелолейкозе.

Терапия рецидивов и 2-я трансплантация

Как и при других гемобластозах, терапия рецидивов ЮММЛ после трансплантации является трудноразрешимой задачей. Единичные случаи успешной терапии альфа-интерфероном, DLI, иными иммунологическими вмешательствами являются скорее анекдотом, чем руководством к действию [19, 20, 24]. В целом, единственным реальным шансом на излечение остается 2-я трансплантация, выполнение которой не только возможно технически, но и, согласно ряду публикаций, абсолютно целесообразно. БСВ после 2-й трансплантации, выполненной по поводу рецидива, составляет до 32 %, что сопоставимо с результатами первой трансплантации [25, 26].

Прогностические факторы

Наше знание о прогностических факторах при ЮММЛ ограничено малым числом пациентов, включенных в проспективные исследования, и фрагментарными представлениями о биологии заболевания. В исследовании F. Locatelli в мультивариантном анализе неблагоприятное прогностическое значение сохранили только женский пол и возраст > 4 лет [6]. Выявленная в нашем исследовании парадоксальная ассоциация низкого уровня тромбоцитов и высокого уровня ЛДГ на этапе установления диагноза с лучшей БСВ не имеет, на наш взгляд, очевидного биологического объяснения и требует проверки. В перспективе расшифровка молекулярных механизмов

патогенеза ЮММЛ позволит точнее классифицировать пациентов и определять прогноз заболевания. Так, в исследовании S. Bresolin et al. показано, что генетический экспрессионный профиль коррелирует с исходом трансплантации при ЮММЛ точнее, чем любой из существующих клинических и лабораторных показателей [27].

Заключение

Современная тактика ведения пациентов с ЮММЛ включает аллогенную ТГСК как основной терапевтический элемент. Тактика предтрансплантационной терапии определяется индивиду-

ально в зависимости от агрессивности миелопротекции и организационных аспектов. Технически в выборе кондиционирования сохраняется установка на использование миелоаблативных доз бусульфана и его аналогов. При выборе донора предпочтение отдается родственным и неродственным совместимым донорам. Принимая во внимание неудовлетворительные, в целом, результаты ТГСК при ЮММЛ, представляется необходимым и оправданным включение всех пациентов с ЮММЛ в исследования II–III фазы с использованием инновационных медикаментозных и иммунотерапевтических подходов.

ЛИТЕРАТУРА

1. de Vries A.C., Zwaan C.M., van den Heuvel-Eibrink M.M. Molecular basis of juvenile myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 2010;95(2):179–82.
2. Loh M.L. Childhood myelodysplastic syndrome: focus on the approach to diagnosis and treatment of juvenile myelomonocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010;2010:357–62.
3. Arico M., Biondi A., Pui C.H. Juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood* 1997;90(2):479–88.
4. McCallister J.A., Baehner R.L. Juvenile chronic granulocytic leukemia and the rationale and indications for bone marrow transplantation in leukemia. *Pediatrics* 1979;63(1):165–6.
5. Chan H.S., Estrov Z., Weitzman S.S. et al. The value of intensive combination chemotherapy for juvenile chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 1987;5(12):1960–7.
6. Locatelli F., Nollke P., Zecca M. et al. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML): results of the EWOG-MDS/EBMT trial. *Blood* 2005;105(1):410–9.
7. Sanders J.E., Buckner C.D., Stewart P. et al. Successful treatment of juvenile chronic granulocytic leukemia with marrow transplantation. *Pediatrics* 1979;63(1):44–6.
8. Locatelli F., Niemeyer C., Angelucci E. et al. Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelomonocytic leukemia in childhood: a report from the European Working Group on Myelodysplastic Syndrome in Childhood. *J Clin Oncol* 1997;15(2):566–73.
9. Bunin N., Saunders F., Leahey A. et al. Alternative donor bone marrow transplantation for children with juvenile myelomonocytic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 1999;21(6):479–85.
10. Donadieu J., Stephan J.L., Blanche S. et al. Treatment of juvenile chronic myelomonocytic leukemia by allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994;13(6):777–82.
11. Korthof E.T., Snijder P.P., de Graaff A.A. et al. Allogeneic bone marrow transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: a single center experience of 23 patients. *Bone Marrow Transplant* 2005;35(5):455–61.
12. Lutz P., Zix-Kieffer I., Souillet G. et al. Juvenile myelomonocytic leukemia: analyses of treatment results in the EORTC Children's Leukemia Cooperative Group (CLCG). *Bone Marrow Transplant* 1996;18(6):1111–6.
13. Manabe A., Okamura J., Yumura-Yagi K. et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for 27 children with juvenile myelomonocytic leukemia diagnosed based on the criteria of the International JMML Working Group. *Leukemia* 2002;16(4):645–9.
14. Matthes-Martin S., Mann G., Peters C. et al. Allogeneic bone marrow transplantation for juvenile myelomonocytic leukaemia: a single centre experience and review of the literature. *Bone Marrow Transplant* 2000;26(4):377–82.
15. Sanders J.E., Buckner C.D., Thomas E.D. et al. Allogeneic marrow transplantation for children with juvenile chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1988;71(4):1144–6.
16. Yabe M., Sako M., Yabe H. et al. A conditioning regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan for allogeneic stem cell transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukemia. *Pediatr Transplant* 2008;12(8):862–7.
17. Yusuf U., Frangoul H.A., Gooley T.A. et al. Allogeneic bone marrow transplantation in children with myelodysplastic syndrome or juvenile myelomonocytic leukemia: the Seattle experience. *Bone Marrow Transplant* 2004;33(8):805–14.
18. Tanoshima R., Goto H., Yanagimachi M. et al. Graft versus leukemia effect against juvenile myelomonocytic leukemia after unrelated cord blood transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 2008;50(3):665–7.
19. Worth A., Rao K., Webb D. et al. Successful treatment of juvenile myelomonocytic leukemia relapsing after stem cell transplantation using donor lymphocyte infusion. *Blood* 2003;101(5):1713–4.
20. Yoshimi A., Bader P., Matthes-Martin S. et al. Donor leukocyte infusion after hematopoietic stem cell transplantation in patients with juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2005;19(6):971–7.
21. Хачатрян Л.А., Масчан М.А., Самочатова Е.В. и соавт. Дифференцировочная терапия с использованием 13-цис-ретиноевой кислоты и низких доз цитозин-арабинозида у детей с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом. *Онкогематол* 2008;1–2:34–8.
22. Maschan A.A., Khachatryan L.A., Solopova G.G. et al. Development of T-cell acute lymphoblastic leukemia in a patient in very long lasting complete remission of juvenile myelomonocytic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2011;33(1):32–4.
23. Matsuda K., Sakashita K., Taira C. et al. Quantitative assessment of PTPN11 or RAS mutations at the neonatal period and during the clinical course in patients with juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2010;148(4):593–9.
24. Stachel D.K., Leipold A., Kuhlen M. et al. Simultaneous control of third-degree graft-versus-host disease and prevention of recurrence of juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) with 6-mercaptopurine following fulminant JMML relapse early after KIR-mismatched bone marrow transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005;27(12):672–4.
25. Yoshimi A., Mohamed M., Bierings M. et al. Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) results in outcome similar to that of first HSCT for patients with juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2007;21(3):556–60.
26. Chang Y.H., Jou S.T., Lin D.T. et al. Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: case report and literature review. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26(3):190–3.
27. Bresolin S., Zecca M., Flotho C. et al. Gene expression-based classification as an independent predictor of clinical outcome in juvenile myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28(11):1919–27.