

Становление донорского химеризма у пациентов с первичными иммунодефицитами после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

В.А. Лавриненко, Ю.Е. Марейко, Е.Ю. Березовская, М.В. Стеганцева, Н.В. Минаковская, М.В. Белевцев

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»;
Республика Беларусь, 223053 Минский р-н, Боровлянский с/с, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Контакты: Виктория Александровна Лавриненко lavrinenkovictoria@gmail.com

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) применяется для лечения широкого круга первичных иммунодефицитов (ПИД). Исследование особенностей становления гемопоэтического химеризма у пациентов с различными ПИД и его связи с исходом аллоТГСК представляет большой интерес. В исследование включены 16 аллоТГСК у пациентов с ПИД. Трехлетняя общая выживаемость составила $72,2 \pm 12,0$ %. У 13 (81,25 %) пациентов удалось достигнуть полного донорского химеризма (ПДХ). У 3 (18,75 %) пациентов наблюдалось длительное персистирование смешанного химеризма (СХ). При СХ в периферической крови Т-клеточная субпопуляция представлена в основном клетками донора, а гранулоциты преимущественно или полностью клетками реципиента; уровень химеризма в субпопуляции В-лимфоцитов значительно различается от их полного отсутствия (0 % химеризм) до ПДХ. У пациентов с ПИД может наблюдаться приживление отдельных клеточных линий (расщепленный химеризм). У некоторых пациентов произошло значительное снижение химеризма в течение 1 года с последующей стабилизацией. Увеличивающийся СХ не ассоциирован с отторжением трансплантата при ПИД. Развитие ПДХ у пациентов с ПИД обеспечивает восстановление всех клеточных линий, участвующих в иммунном ответе независимо от диагноза, однако сопряжено с более частым развитием РТПХ, которая является серьезным осложнением аллоТГСК и может стать причиной смертности, связанной с лечением (treatment-related mortality, TRM). СХ/расщепленный химеризм, при котором меньше частота развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), также может обеспечить формирование полноценного иммунного ответа и коррекцию других проявлений заболевания, но только при замещении дефектных линий клеток в зависимости от диагноза.

Ключевые слова: химеризм, субпопуляции лейкоцитов, первичные иммунодефициты, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, иммунологическое восстановление, реакция «трансплантат против хозяина», дети

Для цитирования: Лавриненко В.А., Марейко Ю.Е., Березовская Е.Ю. и др. Становление донорского химеризма у пациентов с первичными иммунодефицитами после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Онкогематология 2018;13(2):82–92.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-2-82-92

Donor chimerism in patients with primary immunodeficiency after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation

V.A. Lavrinenko, Y.E. Marejco, E.Y. Berezovskaya, M.V. Stegantseva, N.V. Minakowskaja, M.V. Belevtsev
Belarussian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; 43 Frunzenskaya St.,
Borovlyani 223053 Minsk region, Republic of Belarus

Allogeneic stem cell transplantation (alloHSCT) is effective curative option for a broad range of primary immunodeficiencies (PIDs). Hematopoietic chimerism monitoring in patients with various PIDs and its connection with the outcome of alloHSCT is of great interest. In this study 16 alloHSCT in patients with PIDs were included. Three-year overall survival was 72.2 ± 12.0 %. Full donor chimerism (FDC) was achieved in 13 (81.25 %) patients. Prolonged persistence of mixed chimerism (MC) was observed in 3 (18.75 %) patients. In patients with MC in the peripheral blood, circulating T-cells are completely or predominantly of donor origin, whereas granulocytes are predominantly or completely recipient cells, and chimerism in B-cells differs significantly from 0 % chimerism to FDC. In patients with PIDs, engraftment of individual cell lines (split chimerism) could be observed. In some patients chimerism decreased during the first year after alloHSCT with its subsequent stabilization. Increasing MC is not associated with transplant rejection in PIDs. FDC in patients with PIDs provides restoration of all cell lines participating in the immune response regardless of the diagnosis, but it is associated with more frequent development of «graft-versus-host» disease (GVHD), which is a serious complication of alloHSCT and can lead to treatment-related mortality (TRM). MC/split chimerism, in which the frequency of development of GVHD is less, can also provide the formation of a full immune response and correction of other disease manifestations, but only when replacing defective cell lines according to the diagnosis.

Key words: chimerism, white blood cell subpopulations, primary immunodeficiency, allogeneic stem cell transplantation, graft-versus-host disease, immune reconstitution, children

For citation: Lavrinenko V.A., Marejco Y.E., Berezovskaya E.Y. et al. Donor chimerism in patients with primary immunodeficiency after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(2):82–92.

Введение

Первичные иммунодефициты (ПИД) представляют собой гетерогенную группу заболеваний с генетическими нарушениями иммунной системы. Они характеризуются нарушением врожденного или адаптивного иммунитета и другими сопутствующими расстройствами [1]. У пациентов могут быть самые разнообразные клинические проявления, в основном связанные с инфекционными, аутоиммунными и онкологическими заболеваниями. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) успешно применяется для лечения широкого круга ПИД, таких как тяжелая комбинированная иммунная недостаточность (ТКИН), хроническая гранулематозная болезнь (ХГБ), синдром Вискотта – Олдрича (СВО), дефицит адгезии лейкоцитов (ЛАД) и др. [2, 3].

При ПИД, как и при других незлокачественных заболеваниях, мониторинг химеризма (определение соотношения количества клеток донора и реципиента) главным образом необходим для оценки приживления и прогноза отторжения трансплантата, оценки исправления и клеточных дефектов, а также служит критерием для коррекции посттрансплантационной терапии (отмена иммуносупрессии, назначение трансфузии донорских лимфоцитов и др.).

При ПИД чаще всего используются режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью (reduced intensity conditioning, RIC), которые обладают меньшей миело- и органотоксичностью, и приводят к более частому развитию смешанного химеризма (СХ) [2–6].

При ПИД возможен вариант неполного замещения гемопоэза, т. е. наличие смешанного химеризма. Цель аллоТГСК – приживление достаточного количества функционально нормальных клеток донора для замещения дефектных линий иммунной системы пациента и коррекции заболевания [3, 4]. Уровень химеризма, необходимый для оптимального терапевтического ответа, во многом зависит от типа заболевания и специфических для данной болезни клеточных дефектов [3]. Кроме того, необходимый уровень приживления донорских клеток является не только специфическим для каждого отдельного ПИД, но и линейно-специфическим (например, для лечения ХГБ необходимо приживление миелоидной линии, тогда как для лечения многих форм ТКИН достаточно будет лимфоидного приживления) [7].

На сегодняшний день приживление донорских клеток, динамика химеризма и ее влияние на исход у пациентов с ПИД мало изучены. Различные особенности иммунной системы у пациентов с ПИД не позволяют экстраполировать на них данные по химеризму, полученные у пациентов с другими заболеваниями. ПИД условно можно разделить на несколько групп, для каждой из которых применяется свой подход к проведению аллоТГСК [2], при этом динамика химеризма и связь с клинической картиной для каждой группы имеют свои особенности.

Целью данного исследования стало изучение особенностей становления гемопоэтического химеризма у пациентов с различными ПИД и определение связи химеризма с исходом аллоТГСК.

Материалы и методы

Пациенты. В исследование включены 16 аллоТГСК, которые были выполнены с 2011 по 2017 г. у 16 пациентов с ПИД: 5 пациентов со СВО, 4 – с ТКИН, 1 – с Омен-синдромом, 1 – с недостаточностью МНС II класса, 2 – с ХГБ, 1 – с дефицитом GATA2, 1 – с семейным фагоцитарным лимфогистиоцитозом (ГЛГ), 1 – с LRBA-дефицитом. Информированное согласие было получено у всех пациентов и/или их официальных опекунов. В данный анализ не вошли 2 пациента с синдромом Неймегена, у которых развились ОЛЛ и неходжкинская лимфома. После аллоТГСК они достигли полного донорского химеризма (ПДХ) и находятся в ремиссии.

В таблице представлена детальная характеристика пациентов, которым была проведена аллоТГСК. В исследование включены 9 мальчиков и 7 девочек. Медиана наблюдения за выжившими пациентами составила 3,4 (0,3–6,7) года.

Тринадцать (81,3 %) пациентов получили RIC и 2 (12,5 %) – миелоаблативное кондиционирование (myeloablative conditioning, MAC), 1 (6,2 %) пациенту с ТКИН (T-V⁺NK⁺) была проведена трансплантация без предварительного режима кондиционирования. Медиана возраста пациентов на момент трансплантации составила 2,1 (0,3–26,2) года. Трансплантация от HLA-совместимого сиблинга была проведена при 3 (18,8 %) аллоТГСК, от HLA-совместимого неродственного донора – 6 (37,5 %), от частично несовместимого неродственного – 5 (31,2 %) и гаплоидентичного родственного – 2 (12,5 %) аллоТГСК. Источником стволовых клеток был костный мозг (КМ) у 6 (37,5 %) пациентов, Г-СКФ-мобилизованные стволовые клетки периферической крови (ПСК) у 4 (25 %) и пуповинная кровь у 6 (37,5 %) пациентов. Доза ядросодержащих клеток составила 4,0 (1,4–12) × 10⁸/на кг реципиента, CD34⁺ клеток – 7,1 (0,4–18,1) × 10⁶/кг, CD3⁺ клеток – 44,5 (5,8–342) × 10⁶/кг, CD19⁺ клеток – 14,8 (0,0004 – 138) × 10⁶/кг.

Методы. Определение химеризма проводилось методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) по маркерам InDel (инсерция/делеция) и STR (коротким тандемным повторам) в КМ и/или периферической крови (ПК) на +30, +45, +60, +80, +100, +140, +180, +245, +365-й дни после аллоТГСК и каждые последующие полгода. При выявлении СХ исследования проводили чаще.

Для амплификации STR-маркеров использовали коммерческий набор AmpFLSTR SGM Plus PCR Amplification Kit (Applied Biosystems, США), разделение продуктов ПЦР проводили с помощью капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе 3130

Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитами, включенных в исследование
 Characteristics of primary immunodeficiencies patients included in the study

Номер пациента (пол) Patient number (gender)	Диагноз Diagnosis	Возраст, лет Age, years	Кондиционирование Conditioning regimens	Донор Donor	Источник стволовых клеток Stem cells source
1 (м) 1 (m)	СВО WAS	1,9	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MMUD (A)	Пуп. кр. UCB
2 (м) 2 (m)	СВО WAS	12	Флу + Тре + Тио + АТГ Flu + Tre + Thio + ATG	MMFD (A, B, C, DR, DQ)	ПСК PBSC
3 (м) 3 (m)	СВО WAS	1,6	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MMUD (B)	Пуп. кр. UCB
4 (м) 4 (m)	СВО WAS	2,2	Флу + Тре Flu + Tre	MSD	КМ BM
5 (м) 5 (m)	СВО WAS	0,4	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MUD	Пуп. кр. UCB
6 (м) 6 (m)	ТКИН (T ^{low} B ⁺ EK ⁺) SCID (T ^{low} B ⁺ NK ⁺)	2,7	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MMUD (B)	Пуп. кр. UCB
7 (ж) 7 (f)	ТКИН (T ⁻ B ⁺ EK ⁺) SCID (T ⁻ B ⁺ NK ⁺)	0,3	Нет No	MMFD (A, B, C, DR, DQ)	ПСК PBSC
8 (м) 8 (m)	ТКИН (T ^{low} B ⁺ EK ⁺) SCID (T ^{low} B ⁺ NK ⁺)	1,9	Флу + Тре Flu + Tre	MMUD (A)	Пуп. кр. UCB
9 (ж) 9 (f)	ТКИН (T ^{low} B ⁺ EK ⁺) SCID (T ^{low} B ⁺ NK ⁺)	26	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MMUD (B)	ПСК PBSC
10 (ж) 10 (f)	Омен-синдром (T ^{low} B ⁻ EK ⁺) Omenn syndrome (T ^{low} B ⁻ NK ⁺)	2,3	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MUD	КМ BM
11 (ж) 11 (f)	GATA2 дефицит GATA2 deficiency	12	Флу + Энд. + ТЛО + АТГ Flu + Endo + TLI + ATG	MUD	ПСК PBSC
12 (ж) 12 (f)	МНС II-дефицит MHC II deficiency	1,4	Флу + Тре Flu + Tre	MUD	Пуп. кр. UCB
13 (ж) 13 (f)	ХГБ CGD	2,0	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MSD	КМ BM
14 (м) 14 (m)	ХГБ CGD	5	Флу + Тре + Тио + АТГ Flu + Tre + Thio + ATG	MUD	КМ BM
15 (ж) 15 (f)	ГЛГ HLH	1,5	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MSD	КМ BM
16 (ж) 16 (f)	LRBA-дефицит LRBA deficiency	6,6	Флу + Тре + АТГ Flu + Tre + ATG	MUD	КМ BM

Примечание. оРТПХ – острая реакция «трансплантат против хозяина»; хРТПХ – хроническая реакция «трансплантат против хозяина»; м – мужской; ж – женский, СВО – синдром Вискотта–Олдрича; ТКИН – комбинированная иммунная недостаточность; ХГБ – хроническая гранулематозная болезнь; ГЛГ – семейный фагоцитарный лимфогистиоцитоз; EK – естественные киллеры; Флу – флударабин, Тре – треосульфат; АТГ – антиtimoцитарный глобулин; Тио – тиопета; Энд. – эндоксан; ТЛО – тотальное лимфоидное облучение; MSD – match sibling donor (совместимый сиблинг); MMFD – mismatch family donor (несовместимый родственный донор); MUD – match unrelated donor (неродственный совместимый донор); MMUD – mismatch unrelated donor (несовместимый неродственный донор); пуп. кр. – пуповинная кровь; ПСК – стволовые клетки периферической крови; КМ – костный мозг; ЦСА – циклоспорин А; ММФ – микофенолата мофетил; Такр. – такролимус; Мет – метотрексат; лок. – локальная хРТПХ; рас. – распространенная хРТПХ; ПДХ – полный донорский химеризм; увел. СХ – увеличивающийся смешанный химеризм; умен. СХ – уменьшающийся смешанный химеризм; ПК – периферическая кровь.

Клеточность трансплантата ($\times 10^8/\text{кг}$) Graft Cellularity ($\times 10^8/\text{kg}$)	CD34 ⁺ клеточность ($\times 10^6/\text{кг}$) CD34 ⁺ cellularity ($\times 10^6/\text{kg}$)	Профилактика РТПХ GVHD prophylaxis	Химеризм +30-й день, % Chimerism, +30 th day, %	oРТПХ, степень aGVHD, stage	xРТПХ chronic GVHD	Динамика химеризма Chimerism dynamics	Исход аллотГСК aHCT results
2,0	0,4	ЦСА + ММФ CSA + MMF	98,6	Нет No	Нет No	ПДХ FDC	Жив (2,6 года) Alive (2.6 years)
4,0	7,1	Такр. Tacr.	99,4	Нет No	—	ПДХ FDC	Умер (0,6 года) Died (0.6 years)
1,4	0,26	ЦСА + ММФ CSA + MMF	100	2	Нет No	ПДХ FDC	Жив (5,9 года) Alive (5.9 years)
5,0	8,4	ЦСА + ММФ CSA + MMF	80,6	Нет No	Нет No	Увел. СХ Inc. MC	Жив (6,7 года) Alive (6.7 years)
2,25	0,44	ЦСА + Медрол CSA + Medrol	87,3	Нет No	Нет No	Умен. СХ, ПДХ Dec. MC, FDC	Жив (4,8 мес) Alive (4.8 months)
3,4	0,5	ЦСА + ММФ CSA + MMF	99,9	4	Лок. Loc.	ПДХ FDC	Умер (2,3 года) Died (2.3 years)
11,4	10,2	ЦСА CSA	10,3	Нет No	Нет No	Умен. СХ Dec. MC	Жив (3,1 года) Alive (3.1 years)
2,2	1,5	ЦСА + ММФ CSA + MMF	100	3	Нет No	ПДХ FDC	Жив (4,3 года) Alive (4.3 years)
3,8	3,8	ЦСА + ММФ CSA + MMF	99,9	3	—	ПДХ FDC	Умер (2,8 мес) Died (2.8 months)
5,3	5,9	ЦСА + ММФ CSA + MMF	99,9	2	Рас. Ext.	Увел. СХ Inc. MC	Жив (3,7 года) Alive (3.7 years)
12,0	7,9	Такр. + Мер Tacr. + MTX	99,9	Нет No	Нет No	ПДХ FDC	Жив (3,1 года) Alive (3.1 years)
1,7	0,8	ЦСА + ММФ CSA + MMF	93,4	2	Нет No	Умен. СХ, ПДХ Dec. MC, FDC	Жив (4,9 года) Alive (4.9 years)
11,4	18,1	ЦСА + ММФ CSA + MMF	100	4	Рас. Ext.	ПК – ПДХ, КМ – увел. СХ PB – FDC, BM – – inc. MC	Жив (4,4 года) Alive (4.4 years)
6,70	9,70	ЦСА + ММФ CSA + MMF	99,8	4	—	ПДХ FDC	Умер (52 день) Died (52 days)
4	7,2	ЦСА CSA	100	3	Лок. Loc.	ПДХ FDC	Жив (1,1 года) Alive (1.1 years)
7,00	9,80	ЦСА + ММФ CSA + MMF	100	3	Нет No	ПДХ FDC	Жив (4,2 мес) Alive (4.2 months)

Note. aGVHD – acute “graft-versus-host” disease; m – male; f – female; WAS – Wiskott – Aldrich Syndrome; SCID – severe combined immunodeficiency; CGD – chronic granulomatous disease; HLH – familial hemophagocytic lymphohistiocytosis; NK – natural killers; Flu – fludarabine; Tre – treosulfan; ATG – antithymocyte globulin; Thio – thiotepa; Endo – endoxan, TLI – total lymphoid irradiation; MSD – match sibling donor; MMFD – mismatch family donor; MUD – match unrelated donor; MMUD – mismatch unrelated donor; UCB – umbilical cord blood; PBSC – peripheral blood stem cells; BM – bone marrow; CSA – cyclosporin A; MMF – mycophenolate mofetil; tacr. – tacrolimus; MTX – methotrexate; loc. – local chronic GVHD; ext. – extensive chronic GVHD; FDC – full donor chimerism; inc. MC – increasing mixed chimerism; dec. MC – decreasing mixed chimerism; PB – peripheral blood.

Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Идентификацию аллелей осуществляли с использованием оригинального программного обеспечения GeneMapper Software (Applied Biosystems, США).

Для исследования методом InDel-ПЦР была выбрана панель праймеров, предложенная М. Alizadeh et al. [8] и М. Koldehoff et al. [9], а также подобранные в нашей лаборатории к другим InDel-маркерам. Первоначально донора и реципиента генотипировали по 30 аллель-специфическим маркерам. Аллели считали информативными, если они были позитивными для реципиента и негативными для донора, или наоборот [10]. Затем проводили количественную ПЦР для определения химеризма в посттрансплантационных образцах.

Для выделения субпопуляций Т- (CD3⁺), В- (CD19⁺), естественных киллерных (ЕК, CD56⁺) клеток, гранулоцитов (CD15⁺) и клеток-предшественников (CD34⁺) использовали метод иммуномагнитной сепарации (magnetic-activated cell sorting, MACS) набором Invitrogen (США) или метод сортировки клеток с активированной флуоресценцией (Fluorescence-activated cell sorting, FACS) на приборе FACSVantage (BD, США). Чистоту изолированных клеток определяли при помощи проточного цитометра Navios (BC, США), в анализе учитывались только образцы с чистотой >95 %.

Иммунологическое восстановление (количество CD3⁺ Т-лимфоцитов, CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов, CD3⁺CD8⁺ цитотоксических Т-клеток, CD3⁺DR⁺ активированных Т-клеток, CD19⁺ В-лимфоцитов, CD16⁺CD56⁺ ЕК-клеток, CD16⁺CD3⁺ ЕКТ-клеток) оценивалось на основании данных иммунограммы, которая выполнялась на +30, +60, +100, +180-й дни и каждые последующие полгода после аллоТГСК. Также были исследованы количественные показатели кольцевых структур ДНК Т- и В-клеточного рецептора (TREC и KREC) методом ПЦР в режиме реального времени. Нижняя граница нормы для TREC и KREC принималась >800 и >500 копий в 1 млн клеток ПК соответственно.

Приживление лейкоцитов, нейтрофилов и тромбоцитов устанавливалось как 1-й из 3 последующих дней с количеством лейкоцитов >10⁹/л, нейтрофилов >0,5 × 10⁹/л и количеством тромбоцитов без трансфузий в течение 7 дней >20 × 10⁹/л и >50 × 10⁹/л соответственно. ПДХ — уровень химеризма с количеством клеток донора >98 %. СХ — уровень химеризма 5–98 %.

Статистическая обработка данных. Показатели общей выживаемости рассчитывали по методу Каплана–Майера. Частота развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) сравнивалась по точному критерию Фишера. Построение графиков и расчеты проводились в GraphPad Prism 6. Результаты анализа считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Медиана наблюдения за выжившими пациентами составила 3,4 (0,3–6,7) года, трехлетняя общая выжи-

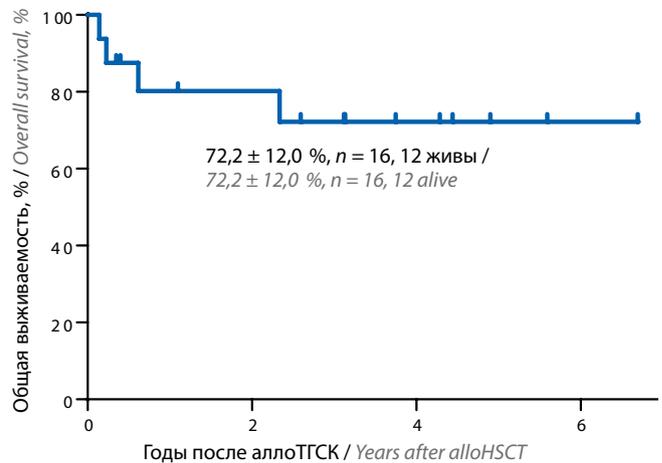


Рис. 1. Общая выживаемость пациентов с первичными иммунодефицитами после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК)

Fig. 1. Overall survival of primary immunodeficiencies patients after allogeneic stem cell transplantation (alloHSC)

ваемость — 72,2 ± 12,0 % (рис. 1). Четыре пациента умерли от инфекционных осложнений, все остальные пациенты — без признаков основного заболевания.

У всех пациентов наблюдалось приживление трансплантата. Медиана времени восстановления лейкоцитов >10⁹/л составила 19 (11–29) дней, нейтрофилов >0,5 × 10⁹/л — 21 (11–31) день, тромбоцитов >20 × 10⁹/л и >50 × 10⁹/л — 18 (12–37) и 22 (14–395) дней, соответственно. У 1 пациента, которому была проведена аллоТГСК без предварительного кондиционирования, оценить приживление было возможно только по химеризму (см. таблицу, пациент 7). На +30-й день после аллоТГСК у 12 (75 %) пациентов с ПИД установился ПДХ (>98 % донорских клеток), у 3 (18,75 %) был СХ с уровнем донорских клеток 80,61–98,59 % и у 1 (6,25 %) — 10,25 % (пациент без предварительного кондиционирования).

У исследуемых пациентов с ПИД выявлялась следующая динамика химеризма (см. таблицу, рис. 2):

- 1) ПДХ (>98,0 % донорских клеток) — у 10 (62,5 %) пациентов;
- 2) уменьшающийся СХ (нарастание клеток донора) — у 3 (18,75 %) пациентов: из них 2 достигли ПДХ (пациент № 12 с недостаточностью МНС II класса и пациент № 5 с СВО) и у 1 развился стабильный персистирующий СХ на уровне 52 % (медиана) донорских клеток (пациент № 7 с ТКИН, которому была проведена аллоТГСК без предварительного кондиционирования);
- 3) увеличивающийся СХ (нарастание клеток реципиента) — у 3 (18,75 %) пациентов, у которых произошла конверсия ПДХ в СХ. У пациента № 13 с ХГБ мы выявили ПДХ в ПК и увеличивающийся СХ в КМ. У 2 других пациентов (пациенты № 4 с СВО и № 10 с Омен-синдромом) значительное снижение химеризма произошло в первые 7–9 мес, а затем уровень химеризма стабилизировался на

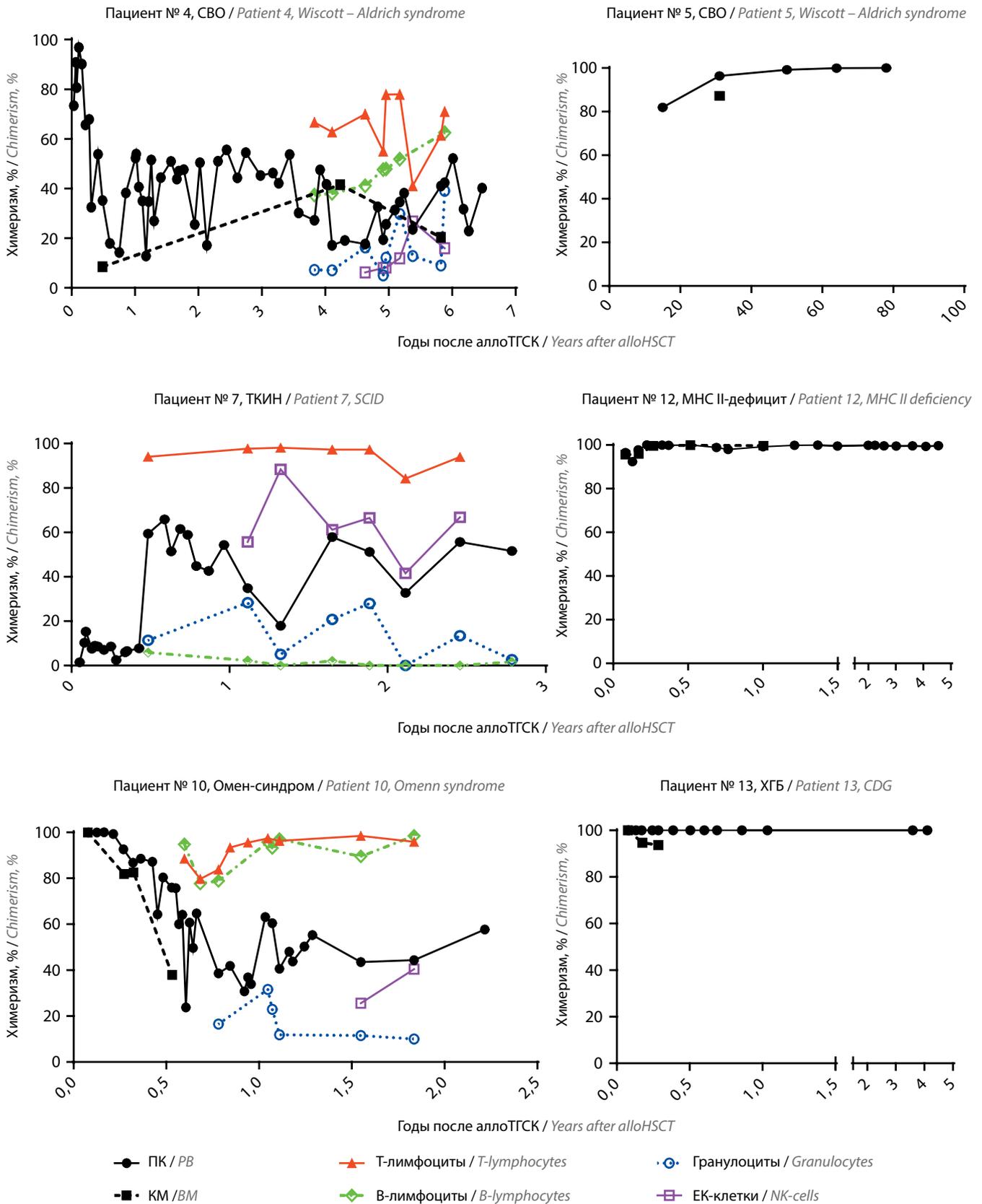


Рис. 2. Динамика химеризма у пациентов с первичными иммунодефицитами. ПК – периферическая кровь; КМ – костный мозг; ЕК – естественные киллеры; аллотГСК – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; СВО – синдром Вискотта–Олдрича; ТКИН – тяжёлая комбинированная иммунная недостаточность; ХГБ – хроническая гранулематозная болезнь

Fig. 2. Chimerism dynamics in primary immunodeficiencies patients. PB – peripheral blood; BM – bone marrow; NK-cells – natural killer cells; alloHCT – allogeneic stem cell transplantation; SCID – severe combined immune deficiency; CDG – chronic granulomatous disease

относительно постоянном уровне, хотя и сопровождался значительными колебаниями химеризма до 30 %.

Таким образом к 1 году после аллоТГСК у 13 (81,25 %) пациентов удалось достигнуть ПДХ в ПК, в том числе у 11 (84,6 %) из 13 пациентов после RIC. У 3 пациентов (18,75 %) наблюдалось длительное персистенция СХ (пациенты № 4, 7 и 10), у них был исследован линейно-специфический химеризм (ЛСХ).

Синдром Вискотта—Олдрича. В группе пациентов с СВО у 4 из 5 развился ПДХ. Из них у 1 пациента развилась вторичная панцитопения на фоне инфекционного процесса, который стал причиной смерти спустя 6 мес после аллоТГСК.

У пациента № 4 с СХ произошло падение уровня донорских клеток с 96 % (+42-й день) до 14 % (+275-й день), в последующих точках уровень химеризма колебался, медиана 40 % (12–56 %) клеток донора. У этого пациента был проведен мониторинг ЛСХ с +1397-го по +2147-й дни (3,8–5,9 года) после аллоТГСК (см. рис. 2). Уровень химеризма Т-клеток колебался от 41 до 78 %, гранулоцитов – от 5 до 39 %, ЕК-клеток – от 6 до 27 %. В уровне химеризма В-клеток в этот же период отмечался стабильный рост с 37 до 63 % донорских клеток. Таким образом, у этого пациента имеется высокий уровень химеризма в Т- и В-лимфоцитах, а в субпопуляции ЕК-клеток и гранулоцитах преобладают клетки реципиента.

Уровень Т-хелперов у пациента с СХ достиг нормы в отличие от пациентов с ПДХ. Остальные гематологические и иммунологические показатели, уровень ТREC и KREC у пациентов восстановились до нормы. Длительность заместительной терапии иммуноглобулинами составила 92–707 дней для пациентов с ПДХ, а пациенту со СХ требовалась более длительная заместительная терапия иммуноглобулином до +2080-го дня (5,6 лет).

Острая РТПХ (oРТПХ) 2-й степени развилась у 1 пациента с ПДХ, хронической РТПХ (xРТПХ) ни у кого нет.

Таким образом, живы 4 пациента. Три пациента с ПДХ без признаков заболевания. У пациента со СХ спустя 6,5 года после аллоТГСК наблюдается только тромбоцитопения ($30\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$), которая не требует заместительных трансфузий тромбоцитарной массы.

Тяжелые комбинированные иммунодефициты. Из 4 пациентов с ТКИН 3 пациента с $T^{\text{low}}V^+EK^+$ фенотипом получили RIC и достигли ПДХ. Из них у 2 пациентов развились летальные инфекционные осложнения через 2,8 мес и 2,3 года после аллоТГСК.

Четвертому пациенту (№ 7) с классическим ТКИН $T^+V^+EK^+$ провели гаплотрансплантацию ПСК от матери без предварительного кондиционирования после $\alpha\beta$ (CD3/CD19) деплеции. У данного пациента развился расщепленный химеризм (Т-клетки – донорские, В-лимфоциты и гранулоциты – собственные). На +19-й день уровень химеризма у него был очень низким –

1,5 % и в период с +30-го до +160-го дня оставался на уровне 2,5–10 %, с +180-го до +1017-го дня – на уровне 18–66 % (медиана 52 %). При этом субпопуляция Т-лимфоцитов (в период 0,5–1,8 года после аллоТГСК) была представлена полностью клетками донора, а субпопуляция В-лимфоцитов – только клетками реципиента. Уровень химеризма гранулоцитов колебался от 0 до 28 %, ЕК-клеток – от 42 до 88 %.

У 3 пациентов с периодом наблюдения более 2 лет отмечалось восстановление гематологических и иммунологических показателей, только у пациента с $T^+V^+EK^+$ ТКИН, имеющего СХ, уровень Т-хелперов остался ниже нормы. Уровень ТREC достиг нормы только у 1 пациента (№ 8) с ПДХ, а уровень KREC – у всех пациентов. Длительность заместительной терапии иммуноглобулинами составила 180–853 дня у пациентов с ПДХ и 897 дней у пациента со СХ.

Острая РТПХ 3–4-й степени развилась у всех 4 пациентов с ПДХ, локальная xРТПХ – у 1 пациента с ПДХ.

Таким образом, живы 2 пациента с ТКИН без признаков заболевания.

Омен-синдром. У пациента № 10 с Омен-синдромом после аллоТГСК развился ПДХ (+28-й день). С +100-го дня наблюдалось снижение химеризма до 24 % (+221-й день) на фоне развившихся иммунотоксических осложнений. В последующие точки (с +228-го по +809-й дни) уровень химеризма колебался в пределах 31–65 % (медиана 47 %) клеток донора. При исследовании ЛСХ наблюдалось снижение донорских клеток во всех субпопуляциях с последующим восстановлением ПДХ в субпопуляциях Т- и В-лимфоцитов и сохраняющимся СХ среди ЕК-клеток и гранулоцитов (химеризм составил 25,6–40,5 % и 10–32 % соответственно). У данного пациента с Омен-синдромом произошло восстановление иммунологических показателей, в том числе уровня ТREC и KREC. Длительность заместительной терапии иммуноглобулинами составила 180 дней.

У этого пациента развилась oРТПХ 2-й степени и распространенная xРТПХ легкой степени. Пациент жив без признаков заболевания.

Хроническая гранулематозная болезнь. Два пациента с ХГБ достигли ПДХ после аллоТГСК. Один из них умер от инфекционных осложнений на 52-й день. Второй находится в ремиссии с восстановлением нормальных гематологических и иммунологических показателей, в том числе уровня ТREC и KREC. Длительность заместительной терапии иммуноглобулинами у него составила 246 дней. У обоих пациентов развилась oРТПХ 4-й степени. Один пациент жив с явлениями распространенной xРТПХ средней степени тяжести без признаков основного заболевания.

Другие ПИД. У пациента с GATA2-дефицитом установился ПДХ с восстановлением нормальных гематологических и иммунологических показателей, в том числе ТREC и KREC. Длительность заместительной терапии иммуноглобулинами составила 843 дня.

Пациент жив без признаков основного заболевания и РТПХ.

У пациента с LRBA-дефицитом (с периодом наблюдения 150 дней) развился ПДХ с восстановлением нормальных гематологических и иммунологических показателей, TREC, кроме KREC. Пациент продолжает получать терапию иммуноглобулином. У ребенка развилась оРТПХ 3-й степени, признаков основного заболевания нет.

У пациента с дефицитом МНС II класса установился ПДХ, произошло гематологическое и иммунологическое восстановление, в том числе уровня TREC и KREC. Длительность заместительной терапии иммуноглобулинами составила 182 дня. У ребенка наблюдалась оРТПХ 2-й степени. В настоящее время пациент жив без признаков основного заболевания.

У пациента с ГЛГ имеется ПДХ, восстановление гематологических иммунологических показателей, TREC и KREC. Длительность заместительной терапии иммуноглобулинами составила 246 дней. У пациента была оРТПХ 3-й степени. Локальная форма хРТПХ на фоне терапии разрешилась. На данный момент пациент жив без признаков основного заболевания.

В исследуемой группе была диагностирована оРТПХ 2–4-й степени у 10 (62,5 %) пациентов и чаще отмечалась у пациентов с ПДХ, чем у пациентов со СХ (9/11 vs. 1/5, $p = 0,036$), при этом тяжелая форма оРТПХ (3–4-я степень) выявлялась только при ПДХ.

Смертность, связанная с лечением (treatment-related mortality, TRM), составила $27,8 \pm 12,0$ %. У всех 4 пациентов с TRM наблюдался ПДХ, у 3 из них была оРТПХ 3–4-й степени.

Обсуждение

ПИД – гетерогенная группа заболеваний с разной способностью к собственному нормальному кроветворению, состоянием иммунной системы и микроокружения [1], что оказывает сильное влияние на приживление донорских клеток и динамику посттрансплантационного химеризма. Даже при применении немиелоаблативных протоколов кондиционирования у большинства пациентов развивается ПДХ [11–14]. Без предварительного кондиционирования, например, у пациентов с ТКИН, возможно приживление отдельных клеточных линий [15].

В ряде исследований [11–14, 16], так же как и в нашем, у большинства пациентов с ПИД изначально развивался ПДХ, но затем у некоторых происходило снижение химеризма в течение 1 года после аллотГСК с последующей стабилизацией без отторжения трансплантата и иногда без возврата заболевания.

Анализ ЛСХ может быть более информативным, чем исследование химеризма в цельной крови и/или КМ. При СХ Т-лимфоциты полностью или преимущественно представлены клетками донора, в отличие от миелоидной линии, в которой преобладают клетки реципиента [4, 15–17]. Уровень химеризма в субпопуляции В-лимфоцитов значительно различается – от

полного отсутствия донорских клеток до ПДХ и, как показали другие исследования, зависит от наличия нормальных В-клеток у реципиента и режимов кондиционирования [7, 16]. Становление донорского гемопоэза в ЕК-клетках носит индивидуальный характер. Как и в других исследованиях, у пациентов с ПИД мы наблюдали расщепленный (split) химеризм [4, 16], например, ПДХ в Т-линии и 0 % клеток донора среди В-клеток и гранулоцитов.

Пациенты с ПИД могут не иметь признаков заболевания уже при уровне химеризма 10 % и выше [11, 13, 14]. При этом следует учитывать, что для разных ПИД необходимо приживление определенной клеточной линии для коррекции заболевания. У пациентов с такими заболеваниями, как ТКИН, ключевым является приживление Т-клеток, тогда как при ХГБ и дефекте ЛАД необходимо приживление миелоидной линии [7]. Безусловно полноценное приживление стволовых клеток, которое подтверждается наличием миелоидного химеризма [14, 18], способствует длительной качественной гематологической и иммунологической реконституции.

СВО обусловлен мутациями в гене *WAS*, экспрессируемом во всех гемопоэтических клетках, что приводит к дефекту их функционирования (тромбоцитопении и прогрессирующей лимфопении и др.) [19, 20]. Поэтому для коррекции всех последствий *WAS*-мутации необходим ПДХ [20, 21]. Однако около 7–10 % пациентов отторгают трансплантат и приблизительно у 20–30 % развивается длительный СХ [20, 21].

В нашем, как и в других международных исследованиях, при СХ у пациентов с СВО наблюдались более высокие уровни донорского химеризма в субпопуляциях Т- и В-лимфоцитов и ниже – в клетках миелоидного ряда [20, 21]. При СХ/расщепленном химеризме остаточные В-клетки реципиента потенциально могут опосредовать развитие аутоиммунных реакций, в 20 % случаев не зависящих от РТПХ [20, 21]. У нашего пациента, как и в этих исследованиях, СХ (<50 %) в миелоидной линии был связан с персистирующей тромбоцитопенией [20, 21].

ТКИН характеризуются глубокой Т-клеточной лимфопенией или олигоклональными нефункциональными Т-клетками (нарушение Т-клеточной дифференцировки), как при Омен-синдроме. Отсутствие Т-клеточного иммунитета, а также В- и ЕК-клеток при некоторых ТКИН представляет собой уникальное условие для приживления донорских клеток и определяет выбор режима кондиционирования (чаще используют RIC или трансплантацию без кондиционирования) [2, 14, 22]. Во многих исследованиях, как и в нашем, показано, что у пациентов с ТКИН субпопуляция Т-лимфоцитов чаще донорская даже при отсутствии кондиционирования [17, 18, 23, 24], а для приживления донорских миелоидных и В-клеток при В+ ТКИН необходимо проведение подготовительно-го режима перед аллотГСК [18, 23–26].

Другие авторы выявили, что устойчивое миелоидное приживление (>10 %) после аллоТГСК было ассоциировано с поддержанием достаточного уровня Т-лимфопоэза, что подтверждалось более высокими значениями TREC [18, 23]. В нашем исследовании уровень TREC у пациента со СХ (без миелоидного приживления) не достиг нормального уровня, хотя и ПДХ не гарантировал восстановления TREC.

Как известно, при некоторых В+ ТКИН собственные В-лимфоциты способны к синтезу иммуноглобулинов и, следовательно, не обязательно приживление донорских В-клеток (например, при мутациях в генах рецептора альфа IL-7, ADA и цепях CD3 [27]). В то же время при В+ ТКИН с функциональной несостоятельностью В-клеток приживление донорских В-лимфоцитов необходимо для обеспечения достаточной продукции иммуноглобулинов (например, при дефиците γ -цепи или JAK3 [23, 27]). У нашего пациента ТКИН был с сохранной функцией В-лимфоцитов, поэтому отсутствие донорского химеризма в данной субпопуляции не повлияло на обеспечение нормального уровня синтеза иммуноглобулинов.

Общепринято считать, что количество клеток донора <5 % является отторжением трансплантата и требует ретрансплантации [28]. У 1 пациента с ТКИН в нашем исследовании мы наблюдали донорский химеризм менее 5 % (1,5–10 %) донорских клеток в первые полгода с последующим увеличением химеризма (в основном за счет донорских

Т- и ЕК-клеток) без развития серьезных инфекционных осложнений.

В нашем, как и в других исследованиях, развитие ПДХ у пациентов с ПИД обеспечивает восстановление всех клеточных линий, участвующих в иммунном ответе независимо от диагноза, однако сопряжено с более частым развитием РТПХ [13, 15], которая является серьезным осложнением аллоТГСК и может стать причиной TRM. СХ/расщепленный химеризм, при котором меньше частота развития РТПХ, также может обеспечить формирование полноценного иммунного ответа и коррекцию других проявлений заболевания [11–13], но только при замещении дефектных линий клеток в зависимости от диагноза [7].

Заключение

В настоящее время аллоТГСК – основной метод лечения пациентов с различными типами ПИД. Исследование химеризма – важная опция в посттрансплантационном наблюдении за пациентами, обеспечивающая диагностику приживления и мониторинг функционирования трансплантата. При СХ необходимо исследование химеризма в отдельных клеточных субпопуляциях (ЛСХ) как более информативного показателя, чем определение химеризма в несортированных образцах. Оценку химеризма и его влияния на эффективность трансплантации следует проводить в зависимости от основного заболевания, что позволит своевременно и адекватно скорректировать лечение.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Ochs H.D., Hagin D. Primary immunodeficiency disorders: general classification, new molecular insights, and practical approach to diagnosis and treatment. *Ann Allergy, Asthma Immunol* 2014;112(6):489–95. DOI: 10.1016/j.anai.2014.04.007. PMID: 24860921.
- EBMT/ESID guidelines for haematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiencies [Online]. Inborn Errors Working Party (IEWP) 2017. Available from: <https://esid.org/content/download/15402/422689/file/ESID%20EBMT%20HSC%20Guidelines%202017.pdf>.
- Chiesa R., Veys P. Reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplant in primary immune deficiencies. *Expert Rev Clin Immunol* 2012;8(3):255–66. DOI: 10.1586/eci.12.9. PMID: 22390490.
- Slatter M.A., Rao K., Abd Hamid I.J. et al. Treosulfan and Fludarabine Conditioning for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Primary Immunodeficiency: UK Experience. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018;24(3): 529–36. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.11.009. PMID: 29155317.
- Mattsson J., Ringden O., Storb R. Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl* 2008;14(1 Suppl 1):165–70. DOI: 10.1016/j.bbmt.2007.10.025. PMID: 18162238.
- Olsson R., Remberger M., Schaffer M. et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013;48(4):537–43. DOI: 10.1038/bmt.2012.239. PMID: 23222384.
- Burroughs L., Woolfrey A. Hematopoietic cell transplantation for treatment of primary immune deficiencies. *Cell Ther Transplant* 2010;2(8). DOI: 10.3205/ctt-2010-en-000077.01. PMID: 21152385.
- Alizadeh M., Bernard M., Danic B. et al. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood* 2002;99(12):4618–25. DOI: 10.1182/blood.V99.12.4618. PMID: 12036896.
- Koldehoff M., Steckel N.K., Hlinka M. et al. Quantitative Analysis of Chimerism after Allogeneic Stem Cell Transplantation by Real-Time Polymerase Chain Reaction with Single Nucleotide Polymorphisms, Standard Tandem Repeats, and Y-Chromosome-Specific Sequences. *Am J Hematol* 2006;81(10):735–46. DOI: 10.1002/ajh.20693. PMID: 16838323.
- Лавриненко В.А., Савицкая Т.В., Волочник Е.В. и др. Количественный анализ химеризма после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток молекулярно-генетическими методами. *Онкогематология* 2014;9(2):29–36. [Lavrinenko V.A., Savitskaya T.V., Volochnik E.V. et al. Quantitative analysis of chimerism after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with molecular genetic methods. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2014;9(2):29–36 (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1818-8346-2014-9-2-29-36.
- Rao K., Amrolija P.J., Jones A. et al. Improved survival after unrelated donor bone marrow transplantation in children with primary immunodeficiency using

- a reduced-intensity conditioning regimen. *Blood* 2005;105(2):879–85. DOI:10.1182/blood-2004-03-0960. PMID: 15367433.
12. Amrolia P., Gaspar H.B., Hassan A. et al. Non-myeloablative stem cell transplantation for congenital immunodeficiencies. *Recent Results Cancer Res* 2002;159:134–42. PMID: 11785837.
 13. Hamidieh A.A., Behfar M., Pourpak Z. et al. Long-term outcomes of fludarabine, melphalan and antithymocyte globulin as reduced-intensity conditioning regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with primary immunodeficiency disorders: a prospective single center study. *Bone Marrow Transplant* 2016;51(2):219–26. DOI: 10.1038/bmt.2015.277. PMID: 26595073.
 14. Rao K., Adams S., Qasim W. et al. Effect of stem cell source on long-term chimerism and event-free survival in children with primary immunodeficiency disorders after fludarabine and melphalan conditioning regimen. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138(4), 1152–60. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.01.053. PMID: 27241891.
 15. Dvorak C.C., Hassan A., Slatter M.A. et al. Comparison of outcomes of hematopoietic stem cell transplantation without chemotherapy conditioning by using matched sibling and unrelated donors for treatment of severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134(4):935–43. e15. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.06.021. PMID: 25109802.
 16. Scarselli A., Di Cesare S., Capponi C. et al. Longitudinal Evaluation of Immune Reconstitution and B-cell Function After Hematopoietic Cell Transplantation for Primary Immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2015;35(4):373–83. DOI: 10.1007/s10875-015-0154-4. PMID: 25875698.
 17. Buckley R.H. Transplantation of hematopoietic stem cells in human severe combined immunodeficiency: longterm outcomes. *Immunol Res* 2010;49(1–3):25–43. DOI: 10.1007/s12026-010-8191-9. PMID: 21116871.
 18. Cavazzana-Calvo M., Carlier F., Le Deist F. et al. Long-term T-cell reconstitution after hematopoietic stem-cell transplantation in primary T-cell-immunodeficient patients is associated with myeloid chimerism and possibly the primary disease phenotype. *Blood* 2007;109(10):4575–81. DOI: 10.1182/blood-2006-07-029090. PMID: 17272510.
 19. Massaad M.J., Ramesh N., Geha R.S. Wiskott-Aldrich syndrome: a comprehensive review. *Ann N Y Acad Sci* 2013;1285:26–43. DOI: 10.1111/nyas.12049. PMID: 23527602.
 20. Moratto D., Giliiani S., Bonfim C. et al. Long-term outcome and lineage-specific chimerism in 194 patients with Wiskott-Aldrich syndrome treated by hematopoietic cell transplantation in the period 1980–2009: an international collaborative study. *Blood* 2011;118(6):1675–84. DOI: 10.1182/blood-2010-11-319376. PMID: 21659547.
 21. Ozsahin H., Cavazzana-Calvo M., Notarangelo L.D. et al. Long-term outcome following hematopoietic stem-cell transplantation in Wiskott-Aldrich syndrome: collaborative study of the European Society for Immunodeficiencies and European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2008;111(1):439–45. DOI: 10.1182/blood-2007-03-076679. PMID: 17901250.
 22. Hassan A., Lee P., Maggina P., Xu J.H. Host natural killer immunity is a key indicator of permissiveness for donor cell engraftment in patients with severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(6):1660–66. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.02.042. PMID: 24794685.
 23. Mazzolari E., Forino C., Guerci S. et al. Long-term immune reconstitution and clinical outcome after stem cell transplantation for severe T-cell immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(4):892–9. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.08.007. PMID: 17825895.
 24. Sarzotti-Kelsoe M., Win C.M., Parrott R.E. et al. Thymic output, T cell diversity and T cell function in long-term human SCID chimeras. *Blood* 2009;114(7):1445–53. DOI: 10.1182/blood-2009-01-199323. PMID: 19433858.
 25. Buckley R.H. B-cell function in severe combined immunodeficiency after stem cell or gene therapy: a review. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(4):790–7. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.02.012. PMID: 20371393.
 26. Haddad E., Leroy S., Buckley R.H. B-cell reconstitution for SCID: Should a conditioning regimen be used in SCID treatment? *J Allergy Clin Immunol* 2013;131(4):994–1000. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.01.047. PMID: 23465660.
 27. Buckley R.H., Win C.M., Moser B.K. et al. Post-transplantation B cell function in different molecular types of SCID. *J Clin Immunol* 2013;33(1), 96–110. DOI: 10.1007/s10875-012-9797-6. PMID: 23001410.
 28. Locatelli F., Lucarelli B., Merli P. Current and future approaches to treat graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Pharmacother* 2014;15(1):23–36. DOI: 10.1517/14656566.2014.852537. PMID: 24156789.

Вклад авторов

В.А. Лавриненко: выполнение исследования химеризма, концепция, дизайн, интерпретация данных и написание статьи;

Ю.Е. Марейко: ведение больных, сбор данных, участие в написании статьи;

Е.Ю. Березовская: выполнение исследования химеризма;

М.В. Стеганцева: исследование TREC и KREC;

Н.В. Минаковская: ведение больных, сбор данных;

М.В. Белевцев: участие в написании статьи, окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

V.A. Lavrinenko: chimerism study, concept, design, data interpretation and article preparation;

Yu.E. Mareyko: patient care, data collection, article preparation;

E.Yu. Berezovskaya: chimerism study;

M.V. Stegantseva: TREC and KREC study;

N.V. Minakovskaya: patient care, data collection;

M.V. Belevtsev: article preparation, final article approval.

ORCID авторов

В.А. Лавриненко: <https://orcid.org/0000-0003-4861-5939>

М.В. Белевцев: <https://orcid.org/0000-0001-9533-4705>

ORCID of authors

V.A. Lavrinenko: <https://orcid.org/0000-0003-4861-5939>

M.V. Belevtsev: <https://orcid.org/0000-0001-9533-4705>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках гранта БРФФИ № М16–095 от 20.05.2016 «Особенности донорского химеризма в различных субпопуляциях гемопоэтических клеток у детей с незлокачественными заболеваниями после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток».

Financing. The study was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, grant No. M16–095 from 20.05.2016 “Characteristics of donor chimerism in different hematopoietic cell subpopulations in children with non-malignant disorders after allogenic transplantation of hematopoietic stem cells”.

Статья поступила: 23.01.2018. **Принята к публикации:** 06.04.2018.

Article received: 23.01.2018. **Accepted for publication:** 06.04.2018.