

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА

BONE MARROW TRANSPLANTATION

Реактивация герпесвирусов у пациентов с лимфомами во время и после выполнения трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток

Herpes Virus Reactivation in Lymphoma Patients During and After Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Я.К. Мангасарова, Ю.О. Давыдова, Д.С. Тихомиров,
О.В. Марголин, Л.Г. Горенкова, Е.С. Нестерова,
Ф.Э. Бабаева, А.Е. Мисюрина, М.О. Багова,
Е.А. Фастова, А.У. Магомедова, И.В. Гальцева,
Т.А. Туполева, С.К. Кравченко

YaK Mangasarova, YuO Davydova, DS Tikhomirov,
OV Margolin, LG Gorenkova, ES Nesterova,
FE Babaeva, AE Misyurina, MO Bagova, EA Fastova,
AU Magomedova, IV Galtseva, TA Tupoleva,
SK Kravchenko

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,
Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167

National Research Center for Hematology,
4 Noviy Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

РЕФЕРАТ

Цель. Оценить частоту выявления ДНК вирусов герпеса человека (цитомегаловируса, вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типов [HSV-1/2], герпеса человека 6-го типа [HHV-6], вируса Эпштейна—Барр) в различных биологических средах на разных этапах трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) и влияние иммунных факторов на реактивацию исследуемых вирусов.

Материалы и методы. С 2019 по 2021 г. в исследование включено 87 пациентов с лимфомами во время и после выполнения аутоТГСК. При вирусологическом мониторинге исследовались различные биологические жидкости (кровь, слюна, моча и др.) перед началом режима кондиционирования, в день 0, а также в дни +5 и +10 после аутоТГСК. У 15 % (14/87) больных в указанные дни (Д0, Д+5 и Д+10) оценивали влияние иммунных факторов (концентрацию IgM, IgG, IgA и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови) на реактивацию герпесвирусов.

Результаты. Общая частота обнаружения вирусных ДНК увеличилась с 26 (26/87) до 42 % (37/87) наблюдений в период восстановления гранулоцитопоэза. Наиболее часто отмечалась реактивация HHV-6 и HSV-1/2 — в 23 (20/87) и 16 % (14/87) случаев соответственно. В группе пациентов с реактивацией герпесвирусной инфекции медиана доли В-лимфоцитов в периферической крови составила 0,26 %, а в группе без реактивации — 6,7 % ($p = 0,019$). Медиана абсолютного содержания В-лимфоцитов в когортке пациентов с выявленными вирусными ДНК составила $0,001 \times 10^9/л$, а в группе без таковых — $0,098 \times 10^9/л$ ($p = 0,026$).

Заключение. Высокая частота выявления ДНК герпесвирусов у пациентов с лимфомами после аутоТГСК

ABSTRACT

Aim. To assess the detection rate of human herpes virus DNA (of cytomegalovirus, herpes simplex virus types 1 and 2 [HSV-1/2], human herpes virus type 6 [HHV-6], and Epstein-Barr virus) in different biological environments at different stages of autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT) as well as the effect of immune factors on reactivation of viruses under study.

Materials & Methods. From 2019 to 2021 the study enrolled 87 lymphoma patients during and after auto-HSCT. Virological monitoring was performed on biological fluids (blood, saliva, urine, etc.) prior to conditioning regimen on Day 0 as well as on Day +5 and Day +10 after auto-HSCT. On these days (Day 0, Day +5, and Day +10) the immune factors (IgM, IgG, and IgA levels and pattern of lymphocyte subpopulation in peripheral blood) in 15 % (14/87) of patients were assessed in terms of their effect on herpes virus reactivation.

Results. The overall rate of viral DNA detection increased from 26 % (26/87) to 42 % (37/87) of cases in the period of granulocytopoietic recovery. The most frequent were HHV-6 and HSV-1/2 reactivations reported in 23 % (20/87) and 16 % (14/87) of cases, respectively. The median B-lymphocyte proportion in peripheral blood of patients with herpes virus reactivation was 0.26 %, whereas in patients without reactivation it was 6.7 % ($p = 0.019$). The median absolute B-lymphocyte count in the cohort of patients with detected viral DNAs was $0.001 \times 10^9/L$, whereas in patients without them it was $0.098 \times 10^9/L$ ($p = 0.026$).

Conclusion. A high rate of herpes virus DNA detection in lymphoma patients after auto-HSCT affected neither transplant engraftment nor transplantation mortality. Immune predictors of virus infection reactivation were the decreasing

не оказывала влияния на приживление трансплантата и трансплантационную летальность. Иммунными предикторами реактивации вирусной инфекции служили два фактора: снижение доли В-клеток от общего числа всех лимфоцитов и абсолютное содержание В-лимфоцитов в периферической крови перед аутоТГСК.

Ключевые слова: герпесвирусные инфекции, трансплантация, лимфома, субпопуляции лимфоцитов.

Получено: 25 января 2022 г.

Принято в печать: 15 мая 2022 г.

Для переписки: Яна Константиновна Мангасарова, канд. мед. наук, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167; тел: +7(926)395-82-52; e-mail: v.k.jana@mail.ru

Для цитирования: Мангасарова Я.К., Давыдова Ю.О., Тихомиров Д.С. и др. Реактивация герпесвирусов у пациентов с лимфомами во время и после выполнения трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. Клиническая онкогематология. 2022;15(3):289–97.

DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-3-289-297

proportion of B-cells in the total lymphocyte count and the absolute B-lymphocyte count in the peripheral blood prior to auto-HSCT.

Keywords: herpes virus infections, transplantation, lymphoma, lymphocyte subpopulation.

Received: January 25, 2022

Accepted: May 15, 2022

For correspondence: Yana Konstantinovna Mangasarova, MD, PhD, 4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; Tel.: +7(926)395-82-52; e-mail: v.k.jana@mail.ru

For citation: Mangasarova YaK, Davydova YuO, Tikhomirov DS, et al. Herpes Virus Reactivation in Lymphoma Patients During and After Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Clinical oncohematology. 2022;15(3):289–97. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-3-289-297

ВВЕДЕНИЕ

Повсеместное распространение вирусов герпеса в природе, разнообразие путей и способов их передачи, способность к пожизненной персистенции в организме хозяина за счет становления латентной формы инфекции и «пантропность» некоторых представителей вирусного семейства приводят к практически тотальной инфицированности взрослого населения. Гуморальный иммунитет не обеспечивает стойкой защиты, что подтверждается рецидивами герпесвирусной инфекции, несмотря на высокие титры противовирусных антител. Неэффективность гуморального противогерпетического иммунитета обусловлена наличием латентной формы инфекции, при которой вирусные частицы сохраняются в перmissive клетках (например, в ганглиях нервной системы, лимфоидных клетках или клетках эпителия сосудов) не в виде интактных вирулентных вирионов, а в форме субвирусных структур, представляющих собой комплекс вирусной ДНК, ковалентно замкнутой в кольцо и стабилизированной вирусными белками. Такая структура обеспечивает ускользание от иммунного надзора и может в любой момент при ослаблении клеточного иммунного контроля перейти в активное репликативное состояние, приводящее к активной инфекции. В зависимости от типа вируса и типа инфицированных клеток (эпителиоциты или лимфоциты) возможны разные сценарии реализации инфекции. В эпителиоцитах, как правило, происходит активная репликация с образованием большого количества новых вирионов, лизисом эпителиоцитов с последующим заражением соседних клеток. Такой сценарий чаще реализуется при простом герпесе, ветряной оспе/опоясывающем лишае (Varicella Zoster). При инфицировании В-лимфоцитов лишь в небольшом коли-

честве клеток происходит активная репликация. В них возможно также становление латентной инфекции, при которой синтезируются лишь белки латентной стадии. Такая ситуация более характерна для вируса Эпштейна—Барр (EBV). При цитомегаловирусной (CMV) инфекции и вирусе герпеса человека 6-го типа (HHV-6) с равной вероятностью могут реализовываться оба сценария. На ранних этапах возможно инфицирование Т- и НК-лимфоцитов с развитием хронической инфекции с персистенцией вируса в лимфоидной ткани на протяжении всей жизни [1–6].

Наиболее значимым фактором, вызывающим реактивацию эндогенных герпесвирусов, является клеточный иммунодефицит. Функциональные нарушения иммунитета, предшествующие реактивации изучаемых патогенов, могут касаться любых клеток иммунной системы: Т- и В-лимфоцитов, нейтрофилов, макрофагов, НК-клеток, системы комплемента, цитокинов и др. [1, 2].

Тяжелый иммунодефицит и, как следствие, реактивация эндогенной герпесвирусной инфекции часто наблюдаются при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК), особенно после выполнения TCR- $\alpha\beta$ -, CD19-деплеции и/или трансплантации от серонегативного донора серопозитивному реципиенту. У пациентов старшего возраста аллоТГСК часто проводится с полным удалением из трансплантата зрелых Т-лимфоцитов, что связано с высокой трансплантационной летальностью преимущественно ввиду вирусных осложнений [7–9]. В настоящее время CMV остается одним из главных патогенов, оказывающих существенное влияние на клинические, биологические и экономические аспекты аллоТГСК [10, 11].

Пациенты с лимфомами после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) не имеют таких отягчающих факторов,

как после аллоТГСК. Однако они также относятся к группе высокого риска по развитию герпесвирусных инфекций на фоне вторичной иммунной недостаточности, которая чаще всего обусловлена уменьшением количества иммунных клеток, их функциональной недостаточностью либо дисбалансом компонентов системы иммунореактивности [12–15].

Исследования, демонстрирующие спектр герпесвирусных инфекций у пациентов в ранний период после аутоТГСК, единичные. Одно из них опубликовано А.Н. Inazawa и соавт. в 2017 г. [13]. В работе представлены результаты проспективного исследования по идентификации 13 видов вирусов, в т. ч. герпетической группы, у пациентов с онкогематологическими заболеваниями, перенесших аутоТГСК. Авторы обращают внимание на высокую частоту (37 %) выявления ДНК HHV-6, практически равную таковой при выполнении аллоТГСК. Пик виремии приходился на Д+21. Наличие или отсутствие клинической манифестации герпесвирусной инфекции не оказывало влияния на приживление трансплантата при проведении аутоТГСК [13]. Однако в указанное исследование включены пациенты с разными нозологическими формами (лимфомами, множественной миеломой, нейробластомой и др.) и не имевшие единого протокола кондиционирования перед аутоТГСК, что затрудняет интерпретацию полученных результатов.

В настоящее время данные, отражающие частоту манифестации герпесвирусной инфекции, иммунные факторы, влияющие на их реактивацию, и клинические проявления заболевания у пациентов с лимфомами, получающих единое кондиционирование перед аутоТГСК, существенно ограничены. Это делает предпринятое нами исследование актуальным.

Цель настоящего исследования — оценить частоту выявления ДНК вирусов герпеса человека (CMV, вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типов [HSV-1/2], HHV-6, EBV) в различных биологических жидкостях на разных этапах аутоТГСК и влияние иммунных факторов на реактивацию исследуемых вирусов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2019 по 2021 г. в отделении интенсивной высококодозной иммунохимиотерапии гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России проведено проспективное исследование, включавшее 87 больных с лимфомами (12 — с лимфомой Ходжкина [ЛХ], 75 — с неходжкинскими лимфомами [НХЛ]). Распределение НХЛ было следующим: В-клеточная лимфома, неклассифицируемая, занимающая промежуточное положение между классической ЛХ и диффузной В-крупноклеточной лимфомой, — 5 пациентов, первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома — 12, диффузная В-крупноклеточная лимфома — 21, В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, неутонченная — 3, лимфома из клеток маргинальной зоны — 3, лимфома из клеток мантии — 4, лимфома Беркитта — 2, фолликулярная лимфома — 19, периферическая Т-клеточная лимфома — 5, НК-/Т-клеточная лимфома, назальный тип — 1. Медиана возраста

пациентов составила 37 лет (диапазон 20–64 года); мужчин было 39, женщин — 48.

Всем пациентам, включенным в исследование, в полной ремиссии заболевания выполнена аутоТГСК (кондиционирование SEAM). Трансплантат у всех пациентов, включенных в анализ, был представлен мобилизованными гемопоэтическими стволовыми клетками периферической крови с количеством клеток CD34+ не менее 2×10^6 /кг массы тела пациента.

Специфическая противовирусная профилактика в период выполнения аутоТГСК не проводилась.

При вирусологическом мониторинге исследовались различные биологические жидкости (периферическая кровь, слюна, моча) в следующих контрольных точках: перед началом кондиционирования, в день 0 (Д0), а также в дни +5 (Д+5) и +10 (Д+10) после аутоТГСК. Анализ других биологических образцов (кала, лаважной жидкости и т. д.) проводился дополнительно при наличии симптомов вирусного поражения кишечника или легких соответственно.

Исследования на наличие ДНК CMV, HSV-1/2, HHV-6 и EBV проводились в отделе вирусологической диагностики ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Вирусные ДНК и их концентрацию определяли методом полимеразной цепной реакции с регистрацией продуктов в реальном времени. Вирусную нагрузку выражали количеством копий геном-эквивалента (копий) в 1 мл жидкости, если материал был представлен слюной, мочой, лаважной жидкостью, или копий на 10^5 ядросодержащих клеток, если материал был представлен периферической кровью. Предел чувствительности составлял 500 копий и более. При выявлении тех или иных вирусных ДНК констатировали реактивацию герпесвирусной инфекции.

В 2021 г. исследование было расширено с целью изучить иммунные факторы, влияющие на реактивацию герпесвирусов в период проведения аутоТГСК. Для этого изучали концентрацию иммуноглобулинов классов М (IgM), G (IgG), А (IgA) и субпопуляционный состав лимфоцитов в дни мониторинга вирусных ДНК. В данный этап работы было включено 15 % (14/87) больных (6 — с ЛХ, 8 — с НХЛ: В-клеточная лимфома, неклассифицируемая, занимающая промежуточное положение между классической ЛХ и диффузной В-крупноклеточной лимфомой, — 2, первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома — 1, диффузная В-крупноклеточная лимфома — 2, фолликулярная лимфома — 1, периферическая Т-клеточная лимфома, неутонченная — 2). Медиана возраста пациентов составила 34 года (диапазон 21–54 года), мужчин было 6, женщин — 9.

Количественное определение IgM, IgG и IgA в периферической крови проводили иммуноферментным методом в лаборатории гуморального иммунитета ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России.

Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови выполняли с помощью проточного цитофлуориметра BD FACSCanto II (Beckton Dickinson, США). Образцы периферической крови с антикоагулянтом ЭДТА окрашивали коммерческой смесью антител Multitest™ 6-Color TBNK (Beckton Dickinson, США). Оценивали

Таблица 1. Частота и клинические проявления герпесвирусных инфекций у пациентов с лимфомами после проведения аутоТГСК ($n = 87$)

Показатель	Число пациентов, n (%)
Вирусная инфекция после аутоТГСК	
Стоматит	66 (76)
Энтероколит	16 (18)
Пневмония	5 (6)
Сочетание ≥ 2 вирусных инфекций	26 (30)
Определение ДНК герпесвируса после аутоТГСК	
<i>Д+5</i>	
Периферическая кровь	0 (0)
Кал/слюна/лаважная жидкость/моча	23 (26)
<i>Д+10</i>	
Периферическая кровь	15 (17)
Кал/слюна/лаважная жидкость/моча	22 (25)
Частота выявления ДНК герпесвируса после аутоТГСК	
<i>HHV-6</i>	
<i>Д+5</i>	31 (36)
<i>Д+10</i>	11 (13)
<i>HSV-1/2</i>	20 (23)
<i>Д+5</i>	22 (25)
<i>Д+10</i>	8 (9)
<i>CMV</i>	14 (16)
<i>Д+5</i>	3 (3)
<i>Д+10</i>	2 (2)
<i>EBV</i>	1 (1)
<i>Д+5</i>	4 (4)
<i>Д+10</i>	3 (3)
<i>Д+10</i>	1 (1)

CMV — цитомегаловирус; EBV — вирус Эпштейна—Барр; HHV-6 — вирус герпеса человека 6-го типа; HSV-1/2 — вирус простого герпеса 1/2-го типа; аутоТГСК — трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток.

относительное и абсолютное содержание Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, В-лимфоцитов и НК-клеток. Для определения абсолютного числа лимфоцитов и их субпопуляций использовали двухплатформенный метод с подсчетом абсолютного количества лейкоцитов с помощью геманализатора Abacus Junior (Diatron, Венгрия). В качестве референсного интервала для основных субпопуляций лимфоцитов использовались данные, представленные в исследовании С.В. Хайдукова и Л.В. Байдун [16].

Статистический анализ

Представленный анализ является проспективным. В качестве потенциальных факторов риска оценивали возраст, пол, диагноз (ЛХ, НХЛ), концентрацию иммуноглобулинов, количество лейкоцитов и субпопуляций лимфоцитов.

Статистический анализ данных проводили с помощью GraphPad Prism 6. Нормальность распределения оценивалась с помощью критерия Шапиро—Уилка. Сравнение количеств субпопуляций лимфоцитов в периферической крови выполняли с помощью критерия Стьюдента или критерия Манна—Уитни (в зависимости от нормальности распределения) между группами пациентов, у которых обнаруживались либо не обнаруживались герпесвирусы в течение 10 дней после аутоТГСК.

ROC-анализ (рабочая характеристика приемника) проводили для оценки значимости концентрации иммуноглобулинов, количества лейкоцитов и субпопуляций лимфоцитов в отношении развития герпесвирусной инфекции после аутоТГСК. Параметр признавали диагностически значимым при показателе AUC (площадь под ROC-кривой) $> 0,5$ при уровне $p < 0,05$. С помощью ROC-анализа в полученных значимых параметрах вычисляли порог, относительно которого определяли вероятность выявления герпесвирусов (за начало отсчета принимали день проведения аутоТГСК). Сравнение кривых проводили с помощью логрангового теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Период наблюдения за пациентами от даты начала предтрансплантационного кондиционирования составил 22–37 дней (медиана 27 дней). До начала режима кондиционирования перед аутоТГСК репликация изучаемых вирусов выявлена у 2 (2 %) из 87 пациентов (ДНК EBV в периферической крови — 1, ДНК HSV-1/2 в слюне — 1). Однако в дальнейшем на всех этапах мониторинга у этих пациентов ДНК вирусов не регистрировались, что позволяет исключить реактивацию вируса до начала кондиционирования перед аутоТГСК. В день проведения аутоТГСК (Д0) ДНК исследуемых вирусов не определялась ни в одном случае. В Д+5 после аутоТГСК вирусной не отмечалось ни у одного пациента, при этом в других биологических жидкостях (слюне, кале, моче, лаважной жидкости) вирусные ДНК были выявлены. Наиболее часто определялись ДНК HHV-6 и HSV-1/2 — в 13 (11/87) и 9 % (8/87) случаев соответственно; ДНК EBV и CMV выявлены в единичных случаях — 3 (3/87) и 1 % (1/87) соответственно. К Д+10 констатировали увеличение частоты определения вирусных ДНК в различных биологических жидкостях, в т. ч. и в периферической крови: HHV-6 — 23 % (20/87), HSV-1/2 — 16 % (14/87), CMV — 2 % (2/87), EBV — 1 % (1/87). При анализе полученных результатов у 9 % (8/87) больных установлена сочетанная реактивация HHV-6 с EBV ($n = 2$), или с HSV-1/2 ($n = 4$), или с CMV ($n = 2$). Таким образом, суммарно на разных этапах аутоТГСК в различных биологических жидкостях вирусная репликация была выявлена в 42 % (37/87) случаев. При однофакторном анализе вероятность реактивации герпесвируса не зависела от пола, возраста и варианта лимфомы ($p > 0,5$). Трансплантационной летальности не зарегистрировано.

Среди клинических проявлений вирусной инфекции доминировал стоматит — 76 % (66/87) случаев, энтероколит зарегистрирован в 18 % (16/87) наблюдений. Вирусная пневмония подтверждена в 6 % (5/87) случаев. В нашем исследовании энцефалита, цистита, поражений кожи, связанных с реактивацией герпесвирусной инфекции, не наблюдалось (табл. 1).

У всех пациентов наблюдалась транзиторная трехростковая цитопения IV степени. Восстановление количества нейтрофилов ($> 0,5 \times 10^9/\text{л}$) отмечалось в течение 8–29 дней (медиана 12 дней), а тромбоцитов ($> 20 \times 10^9/\text{л}$) — в течение 10–42 дней (медиана 18 дней). Таки образом, проведенный

Таблица 2. Иммунные факторы перед аутоТГСК

Показатель	Лимфома Ходжкина	Неходжкинские лимфомы	<i>p</i>
Число пациентов	6	8	
Соотношение мужчин/женщин	3:3	3:5	1,00
Медиана (диапазон) возраста, лет	29,5 (21–39)	38,5 (23–54)	0,12
Обнаружение ДНК герпесвирусов после аутоТГСК, <i>n</i> (%)	2 (33)	5 (62)	0,59
Иммунные факторы до режима кондиционирования перед аутоТГСК			
Медиана (диапазон) IgG, МЕ/мл	120,5 (82–144)	79 (42–224)	0,06
Медиана (диапазон) IgA, МЕ/мл	108 (60–178)	65 (22–180)	0,44
Медиана (диапазон) IgM, МЕ/мл	65,5 (41–229)	49 (20–101)	0,44
Медиана (диапазон) лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	4,4 (2,3–5,7)	3,9 (1,7–7,2)	1,00
Медиана (диапазон) доли лимфоцитов от общего числа лейкоцитов, %	25,1 (0,9–32,2)	28,3 (15,5–40,4)	0,56
Медиана (диапазон) лимфоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	0,745 (0,038–1,330)	1,194 (0,256–2,416)	0,23
Медиана (диапазон) доли Т-клеток от общего числа лимфоцитов, %	81,4 (51,3–83,5)	85,1 (72,4–92,9)	0,23
Медиана (диапазон) доли Т-хелперов от общего числа лимфоцитов, %	19,3 (7,8–37,2)	29,3 (20,9–56,5)	0,07
Медиана (диапазон) доли цитотоксических Т-клеток от общего числа лимфоцитов, %	42,3 (33,9–55,9)	44,8 (31,5–54,1)	0,52
Медиана (диапазон) доли В-клеток от общего числа лимфоцитов, %	6,6 (1,2–22,2)	0,1 (0–6,7)	0,03
Медиана (диапазон) доли NK-клеток от общего числа лимфоцитов, %	14,75 (4,6–37)	10,9 (1,3–22,3)	0,71
Медиана (диапазон) Т-лимфоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	0,513 (0,020–1,095)	0,913 (0,238–2,196)	0,18
Медиана (диапазон) Т-хелперов, $\times 10^9/\text{л}$	0,125 (0,003–0,495)	0,404 (0,075–1,365)	0,18
Медиана (диапазон) цитотоксических Т-клеток, $\times 10^9/\text{л}$	0,346 (0,013–0,594)	0,442 (0,138–0,761)	0,52
Медиана (диапазон) В-лимфоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	0,076 (0,001–0,173)	0,002 (0,000–0,098)	0,13
Медиана (диапазон) NK-клеток, $\times 10^9/\text{л}$	0,062 (0,014–0,132)	0,123 (0,003–0,266)	0,14

анализ клинико-лабораторных данных у пациентов не показал влияния регистрируемой герпесвирусной инфекции на приживление трансплантата, отсроченное восстановление параметров крови и летальность ($p > 0,5$).

У 15 % (14/87) больных оценивали влияние таких факторов, как концентрация IgM, IgG, IgA и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови в точках мониторинга ДНК герпесвирусов (табл. 2). До выполнения кондиционирования перед аутоТГСК у больных ЛХ и НХЛ в полной ремиссии не было найдено значимых различий по возрасту, полу, количеству лейкоцитов, концентрации иммуноглобулинов, относительно и абсолютному числу лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т- и NK-клеток (см. табл. 2). Однако доля В-лимфоцитов (но не абсолютное содержание) у больных НХЛ была меньше, чем у пациентов с ЛХ, что, вероятно, связано с использованием моноклональных анти-CD20-антител на этапе индукции ремиссии в 6 (75 %) из 8 наблюдений.

До аутоТГСК и в течение 10 дней после ее выполнения ни один из изучаемых параметров (концентрация IgM, IgG, IgA, а также относительное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов, Т-хелперов, В-лимфоцитов, цитотоксических Т- и NK-клеток, количество лейкоцитов в периферической крови) не отличался в группах пациентов в зависимости от выявления у них герпесвирусов. Динамика изучаемых параметров представлена на рис. 1. Статистически значимыми оказались два фактора: доля В-клеток от общего числа всех лимфоцитов и абсолютное содержание В-лимфоцитов в периферической крови, измеренные перед началом режима кондиционирования. Медиана доли В-лимфоцитов у пациентов, у которых после аутоТГСК обнаруживались герпе-

свирусы, составила 0,26 %, а в группе без вирусной инфекции — 6,7 % ($p = 0,019$). Медиана абсолютного содержания В-лимфоцитов до аутоТГСК в группе пациентов с выявленной вирусной ДНК после аутоТГСК составила $0,001 \times 10^9/\text{л}$, а в группе без вирусной инфекции — $0,098 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,026$).

ROC-кривые для этих значимых параметров субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови показаны на рис. 2, А и Б. Если до аутоТГСК доля В-клеток от общего числа лимфоцитов была менее 1,5 %, то вероятность обнаружения вирусных ДНК составляла 86 %, а если доля В-лимфоцитов была 1,5 % и более, то репликация вирусов не регистрировалась в течение 10 дней после аутоТГСК ($p = 0,0095$) (рис. 2, В). При применении порога в $0,0015 \times 10^9/\text{л}$ для абсолютного содержания В-лимфоцитов в периферической крови до аутоТГСК вероятность обнаружения герпесвирусов после аутоТГСК составляла 75 и 0 % соответственно ($p = 0,04$) (рис. 2, Г). Таким образом, достаточное содержание В-лимфоцитов перед проведением аутоТГСК, вероятно, защищает от реактивации вирусной инфекции на ранних этапах после аутоТГСК. На достоверность результатов влияет малый объем выборки, что диктует необходимость продолжать исследования для подтверждения и воспроизводимости результатов настоящего наблюдения.

ОБСУЖДЕНИЕ

АутоТГСК является важным этапом лечения пациентов с рецидивами и рефрактерным течением НХЛ и ЛХ. Согласно рекомендациям ведущих зарубежных институтов и клинических групп, аутоТГСК

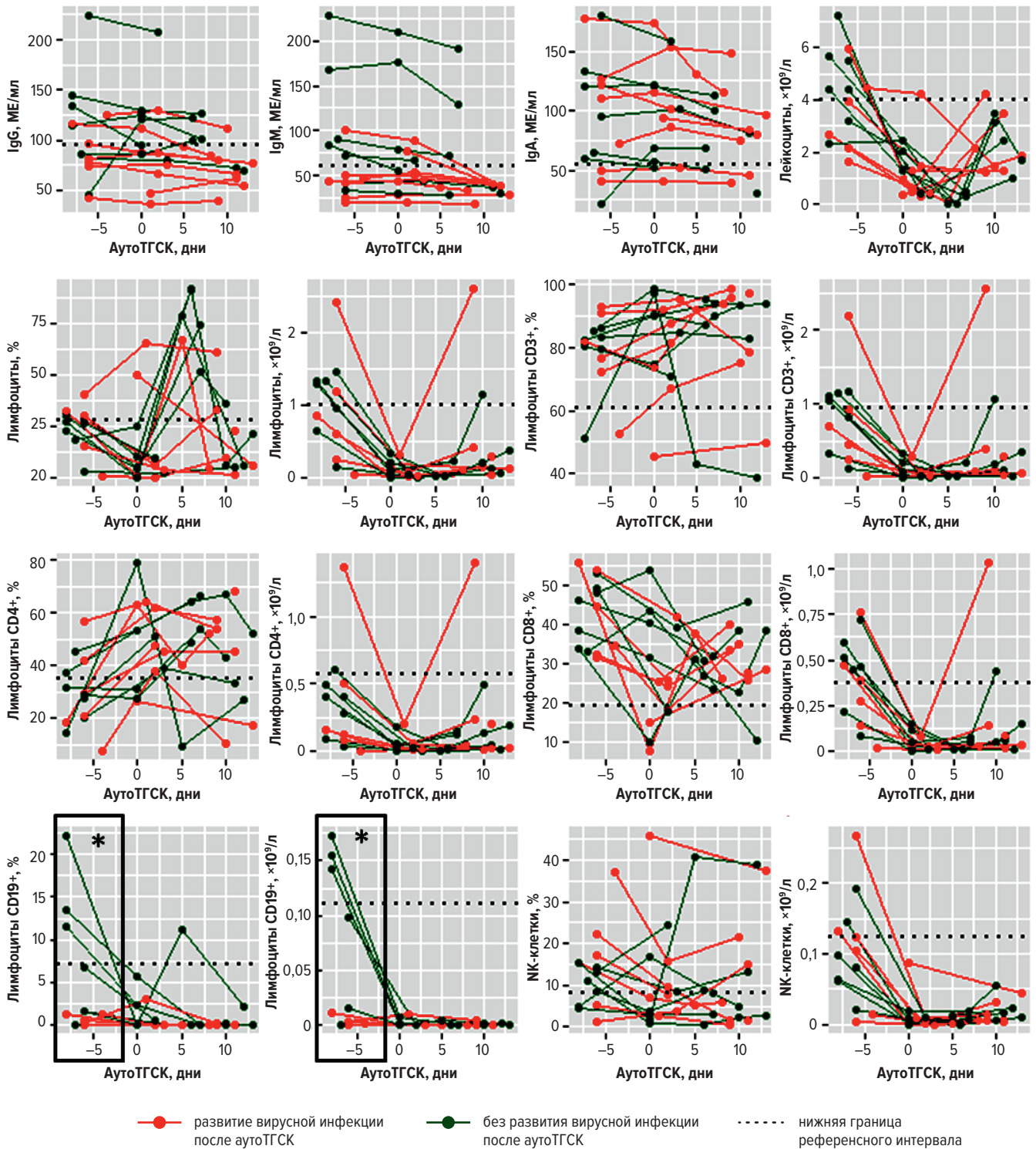


Рис. 1. Концентрация IgG, IgM, IgA и оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови перед началом режима кондиционирования в Д0, а также в Д+5 и Д+10 после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) у пациентов с лимфомами
 * $p < 0,05$.

Fig. 1. IgG, IgM, and IgA levels and the assessment of lymphocyte subpopulation pattern in peripheral blood prior to conditioning regimen on Day 0 as well as on Day +5 and Day +10 after autologous hematopoietic stem cell transplantation (аутоТГСК) in lymphoma patients
 * $p < 0.05$.

больным ЛХ необходимо проводить сразу после констатации неудачи терапии первой линии: при рецидиве заболевания или резистентном течении опухоли. Основное условие такого подхода заключается в сохранении чувствительности опухоли к индукционной противоопухолевой терапии [17, 18]. Не вызывает сомнений, что аутоТГСК является стан-

дартным методом консолидации второй ремиссии в случае развития рецидива и первой ремиссии при рефрактерном течении или наличии факторов неблагоприятного прогноза у пациентов с НХЛ [19, 20]. Современные таргетная и иммунотерапия увеличивают шансы на достижение ответа, но без применения трансплантации даже эти инновационные

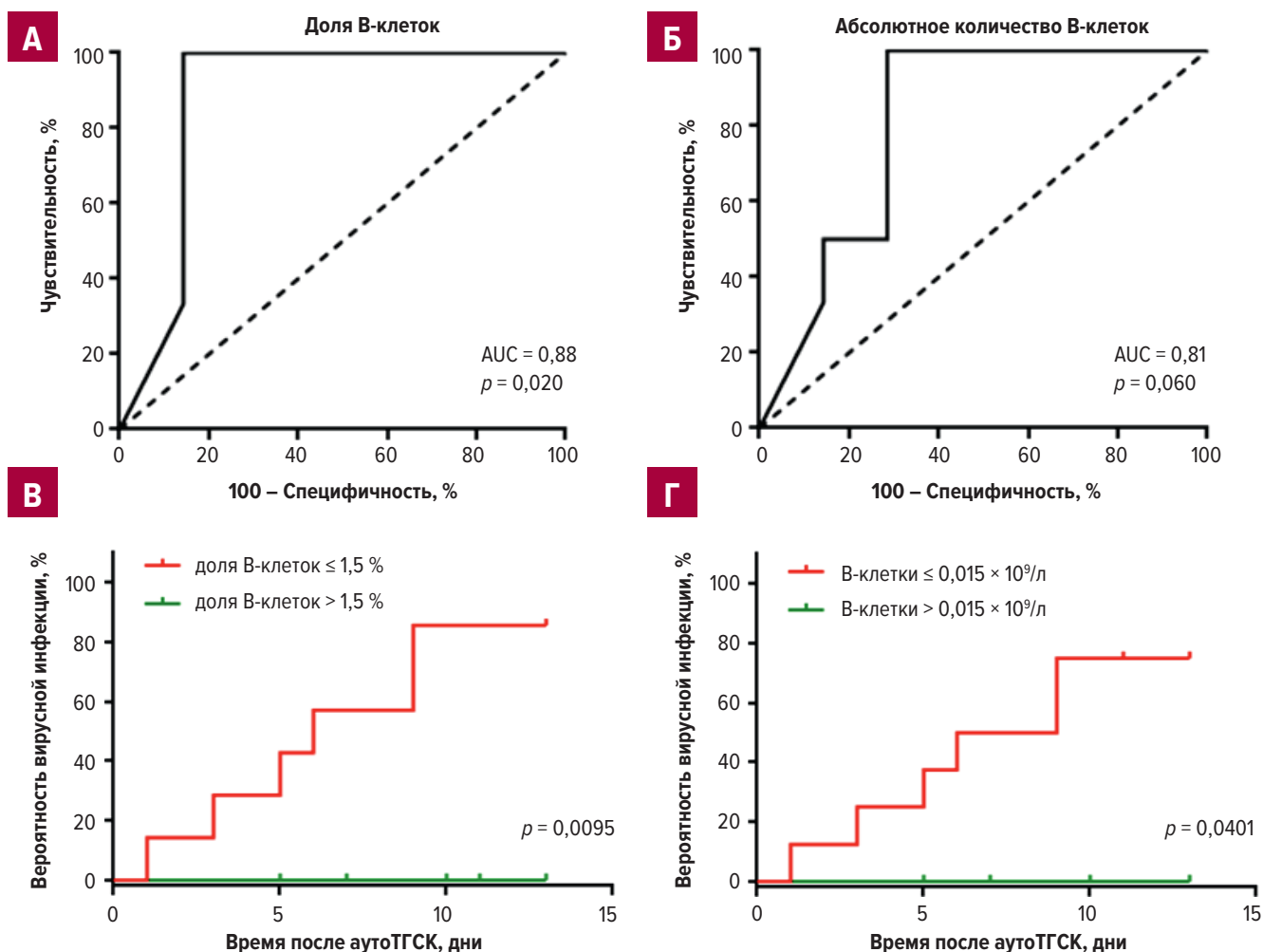


Рис. 2. ROC-анализ для оценки значимости (А) доли В-клеток и (Б) их абсолютного числа до трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) в отношении развития герпесвирусной инфекции после аутоТГСК. Вероятность обнаружения герпесвирусов после аутоТГСК в зависимости от (В) доли В-клеток и (Г) их абсолютного числа в периферической крови у пациентов с лимфомами до аутоТГСК

Fig. 2. ROC analysis for assessing the value of (А) the B-cell proportion and (Б) their absolute count prior to autologous hematopoietic stem cell transplantation (аутоТГСК) with respect to the development of herpes virus infection after auto-HSCT. Probability of detecting herpes viruses after auto-HSCT depending on (В) the B-cell proportion and (Г) their absolute count in peripheral blood of lymphoma patients prior to auto-HSCT

методы обычно не приводят к излечению пациента. Общепризнанной концепцией остается необходимость достижения ремиссии у пациентов как с НХЛ, так и с ЛХ перед трансплантацией, поскольку выполнение аутоТГСК при активной болезни неэффективно. Однако данный этап лечения сопряжен с возможным развитием тяжелых осложнений на фоне полной аплазии кроветворения [21]. Инфекционные осложнения серьезно угрожают жизни. Идентификация возбудителя, проведение адекватной противомикробной терапии и постепенное восстановление моноцитов и гранулоцитов позволяют успешно контролировать эти осложнения в самом раннем периоде после аутоТГСК.

В нашем исследовании аутоТГСК всем пациентам с ЛХ и НХЛ выполнялась в полной ремиссии заболевания, а мониторинг развития герпесвирусной инфекции осуществлялся на разных этапах ее проведения. Полученные результаты показали, что аутоТГСК была связана с высоким риском развития герпесвирусных инфекций, однако это не оказывало

влияния на исход трансплантации. Вирусная репликация в различных биологических жидкостях выявлялась в 42 % (37/87) случаев на разных этапах после аутоТГСК. Общая частота обнаружения вирусных ДНК увеличилась с 26 (26/87) до 42 % (37/87) наблюдений в период восстановления гранулоцитопоза (Д+10), причем наиболее часто происходила реактивация HHV-6 и HSV-1/2 — в 23 (20/87) и 16 % (14/87) случаев соответственно. Выявление ДНК CMV было редким событием и составило 3 % (3/87) наблюдений, что отличается от данных, полученных у пациентов после аллоТГСК, когда частота первичной CMV-инфекции/реактивации достигает 60–70 % [8, 22].

Улучшение методов контроля вирусных инфекций, включая активный мониторинг с использованием чувствительных тест-систем, позволяет в максимально ранние сроки установить реактивацию вирусной инфекции и начать своевременную противовирусную терапию. Наши данные продемонстрировали, что в период миелотоксического агра-

нулоцитоза вiremия не определялась ни у одного пациента, однако выявлялась репликация герпес-вирусов в иных биологических жидкостях, преимущественно в слюне и кале. Данный феномен может быть обусловлен разными факторами. В частности, это может быть связано с уменьшением количества клеток-мишеней в кровотоке в период миелотоксического агранулоцитоза, что, в свою очередь, может ограничивать распространение вирусной инфекции в кровяном русле. С другой стороны, в настоящем исследовании показано, что наиболее частыми инфекционными осложнениями у пациентов с лимфомами после аутоТГСК были стоматит и энтероколит, обусловленные реактивацией герпесвирусов в слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта и, соответственно, их выявлением в слюне и кале в более ранние сроки, чем в крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение как аллоТГСК, так и аутоТГСК характеризуется глубоким клеточным и гуморальным иммунодефицитом, что сопровождается частыми инфекционными осложнениями, среди которых зачастую превалирует реактивация герпесвирусов. При аллоТГСК ведущая роль в реактивации вирусной инфекции принадлежит иммунокомпетентным клеткам, таким как цитотоксические Т-клетки CD8+, Т-хелперы CD4+, НК-клетки, Т-регуляторные клетки, восстановление которых занимает длительный период времени [23, 24]. При аутоТГСК такого глубокого нарушения Т-клеточного звена иммунитета не происходит, период аплазии более короткий и, согласно полученным результатам, имеет место снижение доли В-клеток от общего числа всех лимфоцитов и абсолютного содержания В-лимфоцитов в периферической крови, что и послужило фактором риска реактивации герпесвирусов.

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о высокой частоте выявления ДНК герпесвирусов у больных лимфомами после аутоТГСК. Однако это не повлияло на приживление трансплантата и трансплантационную летальность.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Я.К. Мангасарова, Ю.О. Давыдова, Д.С. Тихомиров.

Сбор и обработка данных: Я.К. Мангасарова, Ю.О. Давыдова, Д.С. Тихомиров, Л.Г. Горенкова, Е.С. Нестерова, О.В. Марголин.

Предоставление материалов исследования:

Я.К. Мангасарова, Ю.О. Давыдова, Д.С. Тихомиров.

Анализ и интерпретация данных: Я.К. Мангасарова, Ю.О. Давыдова, Д.С. Тихомиров.

Подготовка рукописи: Я.К. Мангасарова, Ю.О. Давыдова, Д.С. Тихомиров.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Roizman B, Zhou G. The 3 facets of regulation of herpes simplex virus gene expression: A critical inquiry. *Virology*. 2015;479–480:562–7. doi: 10.1016/j.virol.2015.02.036.
2. Викулов Г.Х. Иммунологические аспекты герпесвирусных инфекций. *Клиническая дерматология и венерология*. 2015;5:104–14. [Vikulov GK. Immunological aspects of herpes virus infections. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*. 2015;5:104–14. (In Russ)]
3. Zuhair M, Smit G, Wallis G, et al. Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: a systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol*. 2019;29(3):e2034. doi: 10.1002/rmv.2034.
4. Deayton JR, Sabin CA, Johnson MA, et al. Importance of cytomegalovirus viremia in risk of disease progression and death in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Lancet*. 2004;363(9427):2116–21. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16500-8.
5. Verschuuren EAM. Balance between Herpes Viruses and Immunosuppression after Lung Transplantation. University of Groningen; 2006.
6. Falcone EL, Adegbulugbe AA, Sheikh V, et al. Cerebrospinal fluid HIV-1 compartmentalization in a patient with AIDS and acute varicella-zoster virus meningomyelocradicitis. *Clin Infect Dis*. 2013;57(5):e135–e142. doi: 10.1093/cid/cit356.
7. Jain NA, Lu K, Ito S, et al. The clinical and financial burden of pre-emptive management of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation-implications for preventative treatment approaches. *Cytotherapy*. 2014;16(7):927–33. doi: 10.1016/j.jcyt.2014.02.010.
8. Teira P, Battiwalla M, Ramanathan M, et al. Early cytomegalovirus reactivation remains associated with increased transplant-related mortality in the current era: a CIBMTR analysis. *Blood*. 2016;127(20):2427–38. doi: 10.1182/blood-2015-11-679639.
9. Webb BJ, Harrington R, Schwartz J, et al. The clinical and economic impact of cytomegalovirus infection in recipients of hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2018;20(5):e12961. doi: 10.1111/tid.12961.
10. Schmitz N, Buske C, Gisselbrecht C. Autologous stem cell transplantation in lymphoma. *Semin Hematol*. 2007;44(4):234–45. doi: 10.1053/j.seminhematol.2007.08.007.
11. Ljungman P. The role of cytomegalovirus serostatus on outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol*. 2014;21(6):466–9. doi: 10.1097/MOH.0000000000000085.
12. Boeckh M, Nichols W. The impact of cytomegalovirus serostatus of donor and recipient before hematopoietic stem cell transplantation in the era of antiviral prophylaxis and preemptive therapy. *Blood*. 2004;103(6):2003–8. doi: 10.1182/blood-2003-10-3616.
13. Inazawa AN, Hori T. Virus Reactivations after autologous hematopoietic stem cell transplantation detected by multiplex PCR assay. *J Med Virol*. 2017;89(2):358–62. doi: 10.1002/jmv.24621.
14. Chapenko S, Troikas I, Donina S, et al. Relationship between beta-herpesviruses reactivation and development of complications after autologous peripheral blood stem cell transplantation. *J Med Virol*. 2012;84(12):1953–60. doi: 10.1002/jmv.23412.
15. Duver F, Weissbrich B, Eyrich M, et al. Viral reactivations following hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients – A single center 11-year analysis. *PLoS One*. 2020;15(2):e0228451. doi: 10.1371/journal.pone.0228451.
16. Хайдуков С.В., Байдун Л.В. Современные подходы к оценке клеточной составляющей иммунного статуса. *Медицинский алфавит*. 2015;2(8):44–51. [Khaidukov SV, Baidun LV. Modern approaches to assessing the cellular component of the immune status. *Meditinskii alfavit*. 2015;2(8):44–51. (In Russ)]
17. Hoppe RT, Advani RH, Ai WZ, et al. Hodgkin lymphoma, version 2.2012 featured updates to the NCCN guidelines. *J Natl Compr Canc Netw*. 2012;10(5):589–97. doi: 10.6004/jnccn.2012.0061.
18. Eichenauer DA, Engert A, Dreyling M, ESMO Guidelines Working Group. Hodgkin's lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2011;22(Suppl 6):vi55–8. doi: 10.1093/annonc/mdr378.
19. Martelli M, Gherlinzoni F, De Renzo A, et al. Early autologous stem-cell transplantation versus conventional chemotherapy as front-line therapy in high-risk, aggressive non-Hodgkin's lymphoma: an Italian multicenter randomized trial. *J Clin Oncol*. 2003;21(7):1255–62. doi: 10.1200/JCO.2003.01.117.
20. Verdonck LF, van Putten WLJ, Hagbeek A, et al. Comparison of CHOP chemotherapy with autologous bone marrow transplantation for slowly

responding patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1995;332(16):1045–51. doi: 10.1056/NEJM199504203321601.

21. Celebi H, Akan H, Akcaglayan E, et al. Febrile neutropenia in allogeneic and autologous peripheral blood stem cell transplantation and conventional chemotherapy for malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26(2):211–4. doi: 10.1038/sj.bmt.1702503.

22. Schmidt-Hieber M, Labopin M, Beelen D, et al. CMV serostatus still has an important prognostic impact in de novo acute leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation: a report from the Acute Leukemia

Working Party of EBMT. *Blood.* 2013;122(19):3359–64. doi: 10.1182/blood-2013-05-499830.

23. Drovok M, Davydova J, Kuzmina L, et al. Level of granzyme B-positive T-regulatory cells is a strong predictor biomarker of acute graft-versus-host disease after day +30 after allo-HSCT. *Leuk Res.* 2017;54:25–9. doi: 10.1016/j.leukres.2017.01.014.

24. Williams K, Gress R. Immune reconstitution and implications for immunotherapy following haematopoietic stem cell transplantation. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2008;21(3):579–96. doi: 10.1016/j.beha.2008.06.003.

