

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 19.07.2023
Принята к печати 14.08.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-28-35

Успех повторной аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток со сменой донора при потере гетерозиготности HLA у пациента с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом: анализ серии клинических случаев

Л.А. Цветкова, А.А. Осипова, А.В. Евдокимов, П.В. Кожокар, Ж.З. Рахманова, И.М. Бархатов, О.В. Паина, О.С. Епифановская, Е.В. Бабенко, Н.Е. Иванова, Д.В. Козлов, Т.Л. Гиндина, Т.А. Быкова, Е.В. Семенова, Л.С. Зубаровская

Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ) – редкое и агрессивное миелопролиферативное/миелодиспластическое новообразование у детей раннего возраста, характеризующееся активацией сигнального пути Ras. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является единственным доказанным излечивающим методом терапии ЮММЛ. Тем не менее 5-летняя общая выживаемость составляет 52–64%. В данной работе проанализировано 4 клинических случая пациентов с рецидивами ЮММЛ после алло-ТГСК, у которых ретроспективно была определена потеря гетерозиготности по генам HLA, расположенным в области короткого плеча 6-й хромосомы. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях. Два пациента получили повторную алло-ТГСК со сменой донора, 2 – без смены донора. Положительный результат в виде достижения стойкой ремиссии наблюдался у 1 пациента, прошедшего повторную алло-ТГСК со сменой донора и восстановившего генетическую гетерозиготность HLA. В то же время иммунотерапия инфузиями донорских лимфоцитов приводила к развитию реакции «трансплантат против хозяина» без потенцирования противолейкемического эффекта. Таким образом, повторная алло-ТГСК со сменой донора в контексте терапии рецидива ЮММЛ, ассоциированного с потерей HLA, приводит к возврату генетической экспрессии HLA, что необходимо для восстановления реакции «трансплантат против ЮММЛ». Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России.

Ключевые слова: ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, потеря HLA

Цветкова Л.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (3): 28–35. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-28-35

A successful second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor in a patient with loss of HLA heterozygosity relapse of juvenile myelomonocytic leukemia: case series analysis

L.A. Tsvetkova, A.A. Osipova, A.V. Evdokimov, P.V. Kozhokar, Zh.Z. Rakhmanova, I.M. Barkhatov, O.V. Paina, O.S. Epifanovskaya, E.V. Babenko, N.E. Ivanova, D.V. Kozlov, T.L. Gindina, T.A. Bykova, E.V. Semenova, L.S. Zubarovskaya

The R.M. Gorbacheva Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation of the I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

Juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) is a rare and aggressive myeloproliferative/myelodysplastic neoplasm of early childhood characterized by activation of the Ras signaling pathway. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is the only proven curative treatment for JMML. However, the 5-year overall survival is about 52–64%. In this work, we analyzed 4 clinical cases of patients with relapses of JMML with loss of heterozygosity in HLA (LoH) after allo-HSCT. The patients' parents gave their consent to the use of their children's data, including photographs, for research purposes and in publications. Two patients received a second allo-HSCT from an alternative donor, two patients – from the same donor. A positive result in the form of a durable remission was observed in one patient who underwent a second allo-HSCT from an alternative donor and restored HLA genetic heterozygosity. At the same time, immunotherapy with infusions of donor lymphocytes led to the development of graft-versus-host disease without potentiating the antileukemic effect. Thus, a second allo-HSCT from an alternative donor for the treatment of relapsed JMML with HLA LoH is necessary to restore the "graft-versus-JMML" response. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

Key words: juvenile myelomonocytic leukemia, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, HLA loss

Tsvetkova L.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (3): 28–35. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-28-35

Контактная информация:

Цветкова Любовь Александровна,
врач-гематолог отделения трансплантации
костного мозга для детей №1 НИИ
детской онкологии, гематологии и
трансплантологии им. Р.М. Горбачевой
ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова
Минздрава России
Адрес: 197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, 6/8
E-mail: tsvetluibov@mail.ru

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 19.07.2023

Accepted 14.08.2023

Correspondence:

Lyubov A. Tsvetkova,
a hematologist at the Pediatric Bone Marrow
Transplantation Department №1
at the R.M. Gorbacheva Research Institute
for Pediatric Oncology, Hematology and
Transplantation of the I.P. Pavlov First Saint
Petersburg State Medical University
of Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: Leo Tolstoy St. 6/8,
St. Petersburg 197022, Russia
E-mail: tsvetluibov@mail.ru

Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ) – редкое и агрессивное миело-пролиферативное/миелодиспластическое новообразование у детей раннего возраста, встречающееся у 1,2 на 1 млн детей в год, что составляет 2% детских гематологических злокачественных новообразований. Медиана возраста на момент диагноза составляет менее 2 лет. Заболевание характеризуется гепатоспленомегалией, лейкоцитозом, тромбоцитопенией, абсолютным моноцитозом > 1000/мкл с циркулирующими незрелыми миелоидными предшественниками, увеличением уровня фетального гемоглобина, количеством бластов в костном мозге (КМ) менее 20%. В основе патогенеза ЮММЛ лежит нарушение регуляции внутриклеточного пути передачи сигнала Ras, вызванное в > 90% случаев мутациями в 1 из 5 первичных генов (*PTPN11*, *NRAS*, *KRAS*, *NF1* или *CBL*) [1, 2]. Для большинства пациентов аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является единственным излечивающим вариантом терапии. Тем не менее 5-летняя общая выживаемость (ОВ) составляет 52–64% [3, 4]. Однако рецидивы заболевания достигают 25–50% и остаются основной причиной неудачи алло-ТГСК [4, 5]. Базируясь на результатах посттрансплантационной иммунотерапии острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) [6, 7], ранняя отмена иммуносупрессивной терапии (ИСТ), инфузии донорских лимфоцитов (ИДЛ) в монотерапии или в сочетании с 5-азациитидином могут быть использованы у пациентов с высоким риском развития рецидива ЮММЛ после алло-ТГСК. Немногочисленные исследования демонстрируют потенциальную эффективность ИДЛ у ограниченного числа пациентов с ЮММЛ [8]. Опубликованные данные об эффективности комбинированной профилактической терапии у детей с ЮММЛ отсутствуют. В случае развития рецидива повторная алло-ТГСК со сменой донора или без нее может быть «терапией спасения» у 30–40% пациентов [3, 9, 10].

Потеря гетерозиготности HLA, происходящая приблизительно у трети пациентов в случае рецидива острого лейкоза после частично совместимой алло-ТГСК, имеет большое значение для определения прогноза и тактики ведения больного. Ввиду необходимости восстановления чувствительности к иммуноадаптивной терапии выполнение повторной алло-ТГСК со сменой донора при данном варианте рецидива может быть методом выбора [11, 12]. Данные об участии этого механизма в эволюции ЮММЛ ранее не были описаны.

В данной работе впервые описаны случаи потери гетерозиготности по генам HLA у детей с рецидивами ЮММЛ после алло-ТГСК. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том

числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В анализ включены 4 пациента с диагнозом ЮММЛ: 2 мальчика и 2 девочки. Медиана возраста составила 2,5 года (2–5 лет) на момент постановки диагноза. Диагноз ЮММЛ был установлен на основании клинических данных (гепатоспленомегалия, лимфаденопатия, лихорадка), картины периферической крови (лейкоцитоз > 10 000/мкл, тромбоцитопения, абсолютное число моноцитов > 1000/мкл), данных миелограммы (гиперклеточный КМ с количеством бластов < 20%, миеломоноцитарная гиперплазия). Всем пациентам проводилось цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследование. Моносомия 7-й хромосомы обнаружена у 2 пациентов, нормальный кариотип – в 2 случаях. Драйверные мутации были выявлены у всех пациентов: *PTNP11* – у 3, *N-RAS* – у 1.

У 1 пациента диагноз был установлен в стадии трансформации в острый лейкоз со смешанным фенотипом: 28% бластов в КМ, по данным иммунофенотипирования выявлены 2 популяции бластных клеток (4,5% В-линейной направленности, 9,1% миелоидной направленности). Дополнительно была обнаружена мутация в гене *RUNX1*.

Все пациенты перед алло-ТГСК получали полихимиотерапию (ПХТ). Высокодозную ПХТ использовали в 3 случаях: блок FLAM (флударабин, цитарабин, митоксантрон) – в 2, блоки ADE, HAM по протоколу AML-BFM-2004 – у пациента с трансформацией в острый лейкоз. Высокодозную ПХТ в комбинации с гипометилирующим агентом 5-азациитидином получили 2 пациента. Одному ребенку была проведена терапия индукции по протоколу AML-BFM-89, дифференцировочная терапия изотретионином, а также малыми дозами цитарабина.

На момент проведения алло-ТГСК у пациента с трансформацией в острый лейкоз клинико-гематологическая ремиссия заболевания не была достигнута (по данным иммунофенотипирования опухолевая популяция 3,2%, моносомия 7-й хромосомы в 100% метафаз). Частичный клинико-гематологический ответ по основному заболеванию (уменьшение гепатоспленомегалии, лейкоцитоза, моноцитоза, уровня бластов в КМ) зафиксирован у 2 пациентов. Прогрессия заболевания в виде нарастания лейкоцитоза, абсолютного моноцитоза, уровня бластов в периферической крови (до 2,5%) и в КМ (до 8,2%) наблюдалась у 1 пациента. Медиана времени от

постановки диагноза до проведения алло-ТГСК составила 6 (4–11) мес.

Алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора (источник – КМ) была проведена 3 пациентам, от неродственного полностью совместимого донора – 1 пациенту (источник – стволовые клетки периферической крови). Все пациенты имели миелоаблативный режим кондиционирования (РК). В 2 случаях использовали треосульфат-содержащий РК (флударабин 150 мг/м², треосульфат 42 г/м², в том числе тиотепа 8 мг/кг у 1 пациента). Бусульфат-содержащий РК с 2 алкилирующими агентами (бусульфат 12 мг/кг, флударабин 150 мг/м², мелфалан 100 мг/м²) получили 2 пациента. В качестве профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) у всех пациентов был использован посттрансплантационный циклофосфамид (ПТЦф) 50 мг/кг на Д+3, Д+4, в 1 случае также была проведена серопротекция тимоглобулином.

Приживление трансплантата с полным донорским химеризмом было достигнуто у всех 4 пациентов: на Д+23, Д+19, Д+21 и Д+32. Персистенция минимальной остаточной болезни методом иммунофенотипирования после алло-ТГСК в размере 0,5% по миелоидному клону сохранялась в 1 случае.

Всем пациентам была выполнена ранняя отмена ИСТ (до Д+100). В качестве профилактики рецидива основного заболевания пациенту №1 проведены 2 курса терапии 5-азациитидином в дозе 75 мг/м². Пациенту №2 с иммуноадаптивной целью на Д+70 и Д+105 выполнены ИДЛ в дозах CD3⁺/кг: 1,0 × 10⁶ и 5,0 × 10⁶. Через 1 мес после второй ИДЛ отмечали развитие индуцированной острой РТПХ печени II степени. Проводилась терапия глюкокортикостероидами, риксолатином. Далее определялась хроническая РТПХ средней степени тяжести с поражением слизистой полости рта, кожи I степени, легких I степени без потребности в системной ИСТ.

Ранний (до года после алло-ТГСК) рецидив заболевания в посттрансплантационном периоде зафиксирован у 3 пациентов: на Д+60, Д+221 и Д+210. У пациента №2 развитие позднего рецидива ЮММЛ отмечалось через 14 мес (Д+447) после алло-ТГСК. Уровень донорского химеризма на момент рецидива составил 60–69% у 3 пациентов, 3–9% у пациента №2.

Ретроспективная оценка потери гетерозиготности по генам HLA проводилась с использованием 2 методов с дальнейшим сопоставлением результатов. Был применен метод сравнения 6 высокополиморфных микросателлитных маркеров (STR) D6S265, D6S473, D6S277, D6S105, D6S273 и D6S291, локализованных на 6-й хромосоме, в пробах пациента до трансплантации и в рецидиве. Также использовалась коммерческая тест-система HLA-KMR (GenDx). В основе методики лежит оценка микрохимеризма на основе количественной полимеразной цепной реакции,

нацеленной на не-HLA маркеры (Indel) в сочетании с анализом HLA-специфичных маркеров [13].

Характеристика пациентов отражена в таблице 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После первой алло-ТГСК потеря HLA-гаплотипа методом STR была выявлена в 3 случаях: пациенты №№1, 2, 3. Информативный HLA-маркер из системы HLA-KMR был подобран для пациентов №1 и №2. Таргетируемыми аллелями стали A*11 у пациента №1 и A*02 у пациента №2. Обнаружено полное соответствие результатов 2 методик, однако в случае HLA-KMR потеря гетерозиготности HLA у пациента №2 была выявлена в пробе с 90–99% химеризмом до появления признаков активного заболевания.

Циторедуктивная терапия перед проведением повторной алло-ТГСК применялась у 2 детей. Пациенту №1 проводилась комбинированная терапия 5-азациитидином 75 мг/м² в сочетании с ИДЛ в дозах 5 × 10⁵/кг и 1 × 10⁶/кг на Д+157 и Д+169 соответственно. После второй ИДЛ отмечалось развитие отсроченной острой РТПХ III степени (кожи III степени, ЖКТ II степени), выполнена терапия метилпреднизолоном 1 мг/кг, тоцилизумабом, будесонидом, с ответом. На фоне проводимой терапии отмечалась стабилизация заболевания в виде незначительного снижения уровня бластов в КМ (с 12 до 7,8%). Циторедуктивная терапия рецидива с использованием низких доз цитарабина, 5-азациитидина 50 мг/м², вентоклакса 140 мг/м², 6-меркаптопурина использовалась у пациента №2.

Повторная алло-ТГСК со сменой гаплоидентичного донора была выполнена 2 пациентам. В 2 случаях повторная алло-ТГСК проведена без смены донора. Миелоаблативный РК (бусульфат 12 мг/кг, флударабин 150 мг/м²) перед повторной алло-ТГСК был проведен пациентам №1 и №4. Немиелоаблативный РК (треосульфат 36 мг/м², флударабин 150 мг/м²) – пациентам №2 и №3. ПТЦф был использован во всех случаях в качестве профилактики острой РТПХ. Приживление трансплантата с полным донорским химеризмом было достигнуто у пациентов №№1, 2, 4 на Д+20, Д+25, Д+28 соответственно. У пациента №3, прошедшего повторную алло-ТГСК без смены донора, на Д+28 констатирована трансформация ЮММЛ в ОМЛ: 54% бластов в КМ, в 90% метафаз выявлен патологический клон с моносомией 7-й хромосомы и дополнительным хромосомным материалом на 15q, в одной клетке выявлены также трисомии 15-й и 21-й хромосом, делеция длинного плеча 20-й хромосомы. Химеризм 30–39%. Проводилась отмена ИСТ, выполнена химиотерапия по схеме AI в комбинации с ингибитором BCL2 венетоклаксом, терапия 5-азациитидином в

Таблица 1
Характеристика пациентов

Table 1
Patient characteristics

Параметр Parameter	Пациенты Patients			
	№1	№2	№3	№4
Пол Sex	Женский Female	Женский Female	Мужской Male	Мужской Male
Манифестация ЮММЛ Manifestation of JMML	Острый лейкоз В/миело Acute leukemia B/myeloid	ЮММЛ JMML	ЮММЛ JMML	ЮММЛ JMML
Мутация Mutation	<i>RUNX1, PTPN11</i>	<i>N-RAS</i>	<i>PTNP11</i>	<i>PTNP11</i>
Цитогенетика Cytogenetics	Моносомия 7 Monosomy 7	46,XX	Моносомия 7 Monosomy 7	46,XY
Терапия перед алло-ТГСК Treatment prior to allo-HSCT	ADE, HAM, 5-азацитидин ADE, HAM, 5-azacytidine	Цитарабин, децитабин, меркаптопурин, FLAM, 5-азацитидин, изотретиноин Cytarabine, decitabine, mercaptopurine, FLAM, 5-azacytidine, isotretinoin	Цитарабин, меркаптопурин, FLAM Cytarabine, mercaptopurine, FLAM	Индукция AML-BFM-89, изотретиноин, цитарабин, алло-ТГСК от неродственного 10/10 донора Induction therapy according to the AML-BFM-89 protocol, isotretinoin, cytarabine, allo-HSCT from an unrelated donor 10/10
Статус перед алло-ТГСК Status prior to allo-HSCT	Редукция бластоза Reduction in blast count	Прогрессия Progression	Частичный клинико-гематологический ответ Partial clinical and hematologic response	Частичный клинико-гематологический ответ Partial clinical and hematologic response
РК Conditioning regimen	FluTreoThiotepa	BuFluMel	BuFluMel	FluTreo
Профилактика РТПХ GvHD prophylaxis	ПТЦф, такролимус, MMF PTCy, tacrolimus, MMF	ПТЦф, такролимус, сиролимус PTCy, tacrolimus, sirolimus	ПТЦф, такролимус, эверолимус PTCy, tacrolimus, everolimus	ПТЦф, тимоглобулин, такролимус, MMF PTCy, Thymoglobulin, tacrolimus, MMF
Тип донора Donor type	Гаплоидентичный Haploidentical	Гаплоидентичный Haploidentical	Гаплоидентичный Haploidentical	Неродственный 10/10 Unrelated 10/10
Приживление, дни от алло-ТГСК Engraftment, days after allo-HSCT	+23	+19	+21	+32
Профилактическая терапия после алло-ТГСК Prophylactic therapy after allo-HSCT	5-азацитидин – 2 курса 5-azacytidine – 2 courses	ИДЛ DLI	Нет No	Нет No
РТПХ GvHD	Отсроченная острая РТПХ кожи, ЖКТ III степени Grade III delayed acute GvHD of the skin, GIT	Отсроченная острая РТПХ печени II степени, хроническая РТПХ средней степени Grade II delayed acute GvHD of the liver, moderate chronic GvHD	Нет No	Нет No

Примечание. Здесь и в таблице 2: ЖКТ – желудочно-кишечный тракт.

Note. Here and in table 2: JMML – juvenile myelomonocytic leukemia; allo-HSCT – allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; PTCy – post-transplant cyclophosphamide; DLI – donor lymphocyte infusions; GIT – gastrointestinal tract; GvHD – graft-versus-host disease.

дозе 50 мг/м². На Д+100 отмечалось развитие острой РТПХ II степени с поражением кожи II степени, ЖКТ I степени. Несмотря на проводимую комбинированную терапию было констатировано резистентное течение заболевания.

Пациентка №1 в связи с персистенцией минимальной остаточной болезни, развитием цитогенетического рецидива на Д+140 получила 4 курса гипометилирующей терапии (5-азацитидин в дозе 35 мг/м²) с эффектом в виде достижения полной клинико-гематологической, цитогенетической, молекулярно-генетической ремиссии, сохраняющейся на момент последнего контакта.

У пациентки №2 по основному заболеванию была достигнута ремиссия. Однако девочка скончалась в раннем посттрансплантационном периоде

из-за развития тяжелых токсических, инфекционных и иммуноопосредованных осложнений: лимбический энцефалит вирусного генеза (HNV 6), судорожный синдром; острая РТПХ кожи III степени, ЖКТ III степени на Д+77, острая РТПХ легких; цитомегаловирусная болезнь с поражением легких, ЖКТ; облитерирующий бронхиолит смешанного генеза, двусторонний пневмоторакс, пневмомедиастинум, подкожная эмфизема в структуре синдрома утечки воздуха.

Пациенту №4 с профилактической целью проводилась иммуноадаптивная терапия донорскими лимфоцитами №3 с Д+80 с интервалом в 1 мес, с эскалацией дозы CD3⁺/кг: 1 × 10⁵, 1 × 10⁶, 1 × 10⁷. Осложнения на фоне ИДЛ – развитие острой РТПХ I степени. Несмотря на проводимую профилактику

рецидива заболевания на Д+200 диагностирован рецидив ЮММЛ. В качестве попытки достижения ремиссии заболевания проведена химиотерапия, блок ADE в комбинации с ИДЛ. $CD3^+/kg - 6,4 \times 10^5$. Несмотря на проводимую комбинированную химио- и иммуноадаптивную терапию была зафиксирована прогрессия заболевания.

Таким образом, на момент последнего контакта (01.07.2023) 1 пациент жив и находится в ремиссии заболевания без признаков РТПХ в течение 3 лет после повторной алло-ТГСК со сменой донора. Два пациента умерли из-за прогрессии заболевания после повторной алло-ТГСК без смены донора. Один пациент умер в раннем посттрансплантационном периоде ввиду развития осложнений, ассоциированных с терапией.

После повторной алло-ТГСК потеря гаплотипа методом STR была впервые выявлена у пациента №4, сохранялась у пациента №3. В то же время у пациентки №1, прошедшей алло-ТГСК со сменой донора, при исследовании потери гаплотипа HLA после повторной алло-ТГСК методом количественной полимеразной цепной реакции HLA-KMR отмечалось восстановление гетерозиготности соответствующего аллеля HLA.

Подробное описание результатов терапии рецидива представлено в таблице 2.

Таким образом, смена донора при выполнении повторной алло-ТГСК позволила достичь возврата генетической экспрессии HLA, что привело к модуляции реакции «трансплантат против ЮММЛ» под действием 5-азацитина у пациентки №1.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

ЮММЛ – клональное миелопролиферативное новообразование кроветворной системы, характеризующееся в большинстве случаев неблагоприятным прогнозом и высокой частотой летальности. Алло-ТГСК является единственным излечивающим методом терапии. Рецидивы остаются основной причиной смерти после алло-ТГСК. В исследовании EUROCORD-CIBMTR 5-летняя вероятность бессобытийной выживаемости для детей, перенесших алло-ТГСК от совместимого сиблинга или неродственного донора, составила 55% и 49% соответственно [4].

По литературным данным, пациенты в возрасте 2 года и старше на момент постановки диагноза, с мутацией *NF1* или соматической мутацией *PTPN11*, высоким профилем метилирования ДНК представляют группу с высоким риском рецидива ЮММЛ после алло-ТГСК (более 50%), что определяет необходимость проведения посттрансплантационной профилактической терапии [1]. Дополнительные мутации ухудшают прогноз у пациентов с мутацией *PTPN11*

[14]. У представленных детей были крайне высокие риски рецидива после алло-ТГСК в виде наличия мутации *PTPN11* у пациентов №1, 3, 4, отсутствия стойкого ответа на момент алло-ТГСК, возраста на момент постановки диагноза 2 года и старше. Пациентка №1 имела дополнительную мутацию *RUNX1*.

Иммуномодулирование реакции «трансплантат против лейкоза» включает раннюю отмену ИСТ с ИДЛ в монотерапии или комбинации с 5-азацитидином. В отдельных случаях ЮММЛ может быть чувствителен к монотерапии ИДЛ [15]. В одной из работ 21 пациент получил ИДЛ для терапии рецидива ЮММЛ после алло-ТГСК. Из них 6 человек имели ответ на терапию, однако долгосрочные результаты были неблагоприятными ввиду рецидива заболевания и развившихся осложнений [4]. Профилактический подход с использованием ИДЛ и гипометилирующих агентов потенциально эффективен у взрослых пациентов с ОМЛ и миелодиспластическими синдромами, но данных у детей, особенно с ЮММЛ, недостаточно [6, 16].

Иммуноадаптивная терапия ИДЛ была проведена пациентке №1 в качестве терапии рецидива лейкоза, пациентке №2 – в качестве профилактики рецидива, пациенту №4 – в качестве профилактики и терапии рецидива после повторной алло-ТГСК.

О существовании реакции «трансплантат против ЮММЛ» косвенно говорят данные, что хроническая РТПХ может снижать риск рецидива у пациентов с ЮММЛ и улучшать показатели выживаемости [17]. В исследовании EUROCORD-CIBMTR острая РТПХ II–III степени была связана со снижением частоты рецидивов ($p = 0,02$), в то время как острая РТПХ IV степени ассоциировалась с высокой частотой трансплантат-ассоциированной летальности [4].

После ИДЛ у 3 реципиентов отмечалось развитие отсроченной острой РТПХ: III степени с вовлечением кожи и ЖКТ у пациентки №1, II степени с вовлечением печени у пациентки №2, I степени с поражением кожи у пациента №4. Переход в распространенную хроническую форму с поражением кожи, слизистых, легких наблюдался далее у пациентки №2. Пациент №3 развил острую РТПХ кожи, ЖКТ II степени после повторной алло-ТГСК без ИДЛ.

Тем не менее у пациентов №1, 3, 4 отмечалась прогрессия заболевания на фоне развития острой РТПХ, у пациентки №2 – рецидив на фоне течения хронической РТПХ. Возможным объяснением диссоциации РТПХ и реакции «трансплантат против лейкоза» у этих пациентов может являться факт потери HLA-гаплотипа клетками опухолевой популяции.

Потеря гетерозиготности по генам HLA – проявление геномной нестабильности опухоли, характеризующееся выпадением участка короткого плеча 6-й хромосомы. Среди злокачественных заболеваний

Таблица 2
Результаты терапии рецидива заболевания

Table 2
The results of treatment for relapse

Параметр Parameter	Пациенты Patients			
	№1	№2	№3	№4
Сроки развития рецидива, дни от алло-ТГСК Time to relapse, days after allo-HSCT	+221	+447	+210	+60
Метод определения потери HLA Method for HLA loss detection	STR, HLA-KMR	STR, HLA-KMR	STR	STR
Потеря HLA после первой алло-ТГСК HLA loss after the first allo-HSCT	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Нет No
Терапия рецидива Treatment for relapse	5-азацитидин, ИДЛ, повторная алло-ТГСК 5-azacytidine, DLI, second allo-HSCT	Цитарабин, меркаптопурин, 5-азацитидин, венетоклакс, повторная алло-ТГСК Cytarabine, mercaptopurine, 5-azacytidine, venetoclax, second allo-HSCT	Повторная алло-ТГСК Second allo-HSCT	Повторная алло-ТГСК Second allo-HSCT
Смена донора после повторной алло-ТГСК An alternative donor for the second allo-HSCT	Да Yes	Да Yes	Нет No	Нет No
РК при повторной алло-ТГСК Conditioning regimen for the second allo-HSCT	BuFlu	TreoFlu	TreoFlu	BuFlu
Рецидив после повторной алло-ТГСК Relapse after the second allo-HSCT	Да Yes	Нет No	Да Yes	Да Yes
Потеря HLA после повторной алло-ТГСК HLA loss after the second allo-HSCT	Нет No	–	Да Yes	Да Yes
Терапия после повторной алло-ТГСК Treatment after the second allo-HSCT	5-азацитидин – 4 курса 5-azacytidine – 4 courses	Нет No	AI, венетоклакс, 5-азацитидин AI, venetoclax, 5-azacytidine	ADE, ИДЛ ADE, DLI
РТПХ после повторной алло-ТГСК GvHD after the second allo-HSCT	Нет No	Острая РТПХ кожи III степени, ЖКТ III степени, легких III степени Grade III acute GvHD of the skin, GIT, lungs	Острая РТПХ кожи II степени, ЖКТ I степени Grade II acute GvHD of the skin, grade I acute GvHD of the GIT	Острая РТПХ кожи I степени Grade I acute GvHD of the skin
Статус “follow up” “Follow-up” status	Ремиссия, жива Remission, alive	Ремиссия, летальный исход из-за осложнений, связанных с терапией Remission, death due to treatment-related complications	Прогрессия, летальный исход Progression, death	Прогрессия, летальный исход Progression, death

крови данный механизм описан при рецидивах острых лейкозов у взрослых и детей после алло-ТГСК [11, 18, 19]. Потеря донор-специфичного гаплотипа HLA на бластной популяции приводит к необратимой потере экспрессии HLA, невозможности распознавания антигенов опухоли Т-клетками и подавлению реакции «трансплантат против лейкемии». В большинстве случаев потеря гаплотипа HLA происходит при наличии несовместимости по локусам HLA в паре «донор–реципиент». В крупном многоцентровом исследовании, изучавшем встречаемость генетической потери HLA при различных алло-ТГСК, частота потери HLA после гаплогенотипной алло-ТГСК составила 22%, после частично совместимой неродственной алло-ТГСК – 12%, после полностью совместимой неродственной алло-ТГСК – 4% [20]. В представленных нами случаях у 3 пациентов потеря HLA-гаплотипа произошла после алло-ТГСК от гаплогенотипного донора, у 1 ребенка – после повторной алло-ТГСК от полностью совместимого неродственного донора.

При острых лейкозах рецидив с потерей HLA происходит позже, чем классический вариант реци-

дива [21, 22]. В предыдущей работе нашего научного коллектива медиана развития рецидива с потерей HLA у детей с острыми лейкозами составила 8 мес [11]. У представленных пациентов (№№1, 3, 4) рецидив заболевания с потерей HLA был диагностирован через 6–7 мес (Д+221, Д+210, Д+200), у пациента №2 – спустя 15 мес (Д+447) после алло-ТГСК.

В качестве факторов риска, ассоциированных с потерей по генам HLA, могут выступать неблагоприятная цитогенетика, ABO-несовместимость, активное заболевание на момент алло-ТГСК, развитие острой и хронической РТПХ [11, 21, 22]. Биология лейкоза, отсутствие ремиссии перед алло-ТГСК, а также развитие РТПХ могли способствовать клональной эволюции опухоли после алло-ТГСК с последующей потерей HLA-гаплотипа.

Пациенты с рецидивом ЮММЛ после алло-ТГСК имеют крайне неблагоприятный прогноз и 5-летнюю ОВ, не превышающую 10%. Опцию повторной алло-ТГСК следует рассматривать во всех случаях неудач первой алло-ТГСК. В недавнем исследовании Европейской рабочей группы по миелодиспластическому синдрому у детей 68 пациентов получили повторную

алло-ТГСК по случаю рецидива ЮММЛ после первой алло-ТГСК [23]. В 31 (45%) случае повторная алло-ТГСК выполнялась без смены донора. В целом 28 (41%) пациентов были живы после второй алло-ТГСК со средним периодом наблюдения 7,7 года (диапазон 0,4–28,3 года). Пятилетняя ОВ и выживаемость без признаков заболевания составляли 40% (27–53%) и 36% (24–48%) соответственно. Смена донора между 2 алло-ТГСК не влияла на результаты терапии.

Тем не менее в контексте потери донорского гаплотипа HLA смена донора имеет большое значение для восстановления экспрессии HLA и механизма «трансплантат против лейкемии». В случае пациентов №3 и №4 повторная алло-ТГСК была выполнена от того же донора с отсутствием эффекта и трансформацией в ОМЛ в первом случае и прогрессией ЮММЛ во втором случае. В то время как в случае пациентки №1 после повторной алло-ТГСК со сменой на другого гаплотипического донора отмечалось восстановление гетерозиготности HLA, подтвержденное лабораторно. Применение длительной посттрансплантационной терапии 5-азациитидином позволило достичь длительной ремиссии, сохраняющейся в течение 3 лет.

Особенностью работы явилась возможность применения 2 методик для анализа потери гетерозиготности HLA. Во-первых, проводилось сравнение 6 STR (D6S265, D6S473, D6S277, D6S105, D6S273, D6S291), локализованных на 6-й хромосоме, в пробах пациента до трансплантации и в рецидиве. Во-вторых, у пациенток №1 и №2 был применен метод HLA-KMR. Результаты полностью совпали, однако при использовании HLA-KMR возможно более раннее определение факта потери гаплотипа HLA при наличии полного донорского химеризма.

Несомненно, наше наблюдение ограничено небольшим количеством случаев, однако дает представление о важности изучения новых факторов для определения вероятности рецидива, ответа на иммунотерапию и показаний к повторной алло-ТГСК. Необходимо продолжение проспективной оценки потери гаплотипа HLA у детей с ЮММЛ после алло-ТГСК для

расширения анализируемой группы и формирования клинических рекомендаций по ведению пациентов с данным заболеванием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В статье продемонстрировано 4 клинических случая пациентов с рецидивом ЮММЛ после алло-ТГСК, у которых при ретроспективном анализе в момент прогрессии заболевания была выявлена потеря гетерозиготности по генам HLA. Иммуноадаптивная терапия ИДЛ, проводимая у 3 пациентов, вызвала индукцию РТПХ, не потенцируя при этом значимого эффекта реакции «трансплантат против лейкемии». Все пациенты получили повторную алло-ТГСК, однако благоприятный терапевтический результат был достигнут только при смене донора и восстановлении гетерозиготности HLA-гаплотипа (пациентка №1).

Тестирование детей с ЮММЛ на предмет потери гаплотипа HLA необходимо для определения целесообразности проведения иммуноадаптивной терапии и выбора оптимального донора при проведении повторной алло-ТГСК.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №22-15-00491 (<https://rscf.ru/project/22-15-00491/>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Tsvetkova L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4952-0704>
Osipova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7629-4293>
Evdokimov A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3809-421X>
Kozhokar P.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5721-0207>
Rakhmanova Zh.Z. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3386-0942>
Barkhatov I.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8000-3652>
Paina O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7263-4326>
Epifanovskaya O.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8168-6811>
Babenko E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3367-4936>
Ivanova N.E. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-5455-860X>
Kozlov D.V. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-8205-0094>
Gindina T.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1302-3311>
Semenova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5077-9225>
Zubarovskaya L.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2594-7703>

Литература

1. Mayerhofer C., Niemeyer C.M., Flotho C. Current Treatment of Juvenile Myelomonocytic Leukemia. *J Clin Med* 2021; 10 (14): 3084.
2. Wintering A., Dvorak C.C., Stieglitz E., Loh M.L. Juvenile myelomonocytic leukemia in the molecular era: a clinician's guide to diagnosis, risk stratification, and treatment. *Blood Adv* 2021; 5 (22): 4783–93.
3. Locatelli F., Nölke P., Zecca M., Korthof E., Lanino E., Peters C., et al.; European Blood and Marrow Transplantation Group. 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.
4. Locatelli F., Crotta A., Ruggeri A., Eapen M., Wagner J., Macmillan M.,

- et al. Analysis of risk factors influencing outcomes after cord blood transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukemia: a EUROCORD, EBMT, EWOG-MDS, CIBMTR study. *Blood* 2013; 122 (12): 2135–41.
5. Yi E.S., Kim S.K., Ju H.Y., Lee J.W., Cho B., Kim B.K., et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with juvenile myelomonocytic leukemia in Korea: a report of the Korean Pediatric Hematology-Oncology Group. *Bone Marrow Transplant* 2023; 58: 20–9.
 6. Guillaume T., Malard F., Magro L., Labopin M., Tabrizi R., Borel C., et al. Prospective phase II study of prophylactic low-dose azacitidine and donor lymphocyte infusions following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2019; 54: 1815–26.
 7. Schmid C., Labopin M., Schaap N., Veelken H., Schleuning M., Stadler M., et al. Prophylactic donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation in acute leukaemia – A matched pair analysis by the Acute Leukaemia Working Party of EBMT. *Br J Haematol* 2019; 184: 782–7.
 8. Yoshimi A., Bader P., Matthes-Martin S., Starý J., Sedlacek P., Duffner U., et al. Donor leukocyte infusion after hematopoietic stem cell transplantation in patients with juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2005; 19: 971–7.
 9. Chang Y.-H., Jou S.-T., Lin D.-T., Lu M.-Y., Lin K.-H. Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: case report and literature review. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26 (3): 190–3.
 10. Kozhokar P.V., Paina O.V., Frolova A.S., Rakhmanova Zh.Z., Borovkova A.S., Semenova E.V., et al. Efficiency of second allogeneic HSCT in the children with acute leukemias with relapses after first transplantation. *Cell Ther Transplant* 2019; 8 (4): 33–40.
 11. Цветкова Л.А., Евдокимов А.В., Бархатов И.М., Паина О.В., Епифановская О.С., Бабенко Е.В. и др. Прогностическое значение потери гетерозиготности HLA после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при развитии рецидива острого лейкоза у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (2): 44–53. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-44-53
 12. Wang A., Li W., Zhao F., Zheng Z., Yang T., Wang S., et al. Clinical Characteristics and Outcome Analysis for HLA Loss Patients Following Partially Mismatched Related Donor Transplantation Using HLA Chimerism for Loss of Heterozygosity Analysis by Next-Generation Sequencing. *Cell Transplant* 2022; 31: 09636897221102902.
 13. Ahci M., Toffalori C., Bouwmans E., Crivello P., Brambati C., Pultrone C., et al. A new tool for rapid and reliable diagnosis of HLA loss relapses after HSCT. *Blood* 2017; 130 (10): 1270–3.
 14. Miao Y., Li B., Ding L., Zhu H., Luo C., Wang J., et al. *PTPN11* mutation with additional somatic alteration indicates unfavorable outcome in juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective clinical study from a single center. *Eur J Pediatr* 2020; 179 (3): 463–72.
 15. Worth A., Rao K., Webb D., Chessells J., Passmore J., Veys P. Successful treatment of juvenile myelomonocytic leukemia relapsing after stem cell transplantation using donor lymphocyte infusion. *Blood* 2003; 101 (5): 1713–4.
 16. Tsvetkova L.A., Paina O.V., Rakhmanova Zh.Z., Osipova A.A., Kozhokar P.V., Frolova A.S., et al. Prophylactic and preventive therapy with azacitidine and donor lymphocyte infusions after allo-HSCT in children with acute myeloid leukemia. *Cell Ther Transplant* 2022; 11 (3): 9–10.
 17. Yoshida N., Sakaguchi H., Yabe M., Hasegawa D., Hama A., Hasegawa D., et al. Pediatric myelodysplastic syndrome working group of the Japan society for hematopoietic cell transplantation. Clinical outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukemia: a report from the Japan society for hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26: 902–10.
 18. Hirabayashi K., Kurata T., Horiuchi K., Saito S., Shigemura T., Tanaka M., et al. Loss of mismatched HLA on the leukemic blasts of patients with relapsed lymphoid malignancies following bone marrow transplantation from related donors with HLA class II mismatches in the graft versus host direction. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (4): 709–11.
 19. Shyr D.C., Zhang B.M., Saini G., Madani N.D., Schultz L.M., Patel S., et al. HLA-haplotype loss after TCRab/CD19-depleted haploidentical HSCT. *Bone Marrow Transplant* 2020; 56 (3): 733–7.
 20. Vago L., Toffalori C., Ahci M., Lange V., Lang K., Todaro S., et al. Incidence of HLA Loss in a Global Multicentric Cohort of Post-Transplantation Relapses: Results from the HlaLoss Collaborative Study. *Blood* 2018; 132: 818.
 21. Muniz P., Kwon M., Carbonell D., Chicano M., Bailen R., Oarbeascoa G., et al. Clinical Utility of the Detection of the Loss of the Mismatched HLA in Relapsed Hematological Patients After Haploidentical Stem Cell Transplantation With High-Dose Cyclophosphamide. *Front Immunol* 2021; 12: 642087.
 22. Crucitti L., Crocchiolo R., Toffalori C., Mazzi B., Greco R., Signori A., et al. Incidence, risk factors and clinical outcome of leukemia relapses with loss of the mismatched HLA after partially incompatible hematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia* 2015; 29: 1143–52.
 23. Vinci L., Flotho C., Noellke P., Lebrecht D., Masetti R., de Haas V., et al. Second allogeneic stem cell transplantation can rescue a significant proportion of patients with JMML relapsing after first allograft. *Bone Marrow Transplant* 2023; 58: 607–9.