

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток в Областной детской клинической больнице № 1 г. Екатеринбурга. Результаты работы за период с 2006 по 2016 г.

Л.В. Вахонина^{1,2}, И.Н. Вяткин¹, Н.Г. Майшева¹, В.А. Пудовкин³, А.А. Игуменцев¹, Е.В. Шориков⁴,
А.Н. Зайчиков¹, Т.Н. Попова¹, О.В. Лемешева¹, Д.В. Чусовитин¹, О.В. Макарова¹, О.Н. Попова¹,
О.Р. Аракаев^{1,2}, Ю.Н. Жукова¹, О.В. Стрелева^{1,2}, А.А. Власова¹, Т.Н. Редреева¹, Т.Ю. Вержбицкая^{1,2},
А.М. Попов⁵, О.В. Никулина^{1,2}, А.С. Демина^{1,2}, Т.О. Ригер^{1,2}, О.Ю. Медведев^{1,2}, А.Е. Друй^{2,5},
Л.И. Савельев^{1,6}, Г.А. Цаур^{1,2,6,7}, Л.Г. Фечина^{1,2}

¹ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149, Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

²ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22А;

³АО «Центр семейной медицины»; Россия, 620043, Екатеринбург, ул. Начдива Васильева, 1/3;

⁴ООО «ПЭТ-Технологии»; Россия, 620905, Екатеринбург, ул. Соболева, 29, стр. 8; ⁵ФГБУ «ННПЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1; ⁶ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 620030, Екатеринбург, ул. Репина, 3; ⁷ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук»; Россия, 620049, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

Контактные данные: Григорий Анатольевич Цаур tsaur@mail.ru

В работе представлены результаты работы Центра детской онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы № 1 г. Екатеринбурга по трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) за период с 2006 по 2016 г. За это время выполнено 117 ТГСК, в том числе 70 аутологичных, 33 аллогенных, 14 гаплоидентичных у пациентов с солидными опухолями ($n = 55$), острыми лейкозами ($n = 27$), лимфомами ($n = 9$), незлокачественными заболеваниями ($n = 11$). Описаны результаты лечения в зависимости от вида заболевания и типа проведенной ТГСК. Указана негативная прогностическая роль сохранения минимальной остаточной болезни (МОБ) перед ТГСК при острых лейкозах и нейробластомах. Показан возможный путь борьбы с сохраняющейся МОБ после ТГСК путем комбинации блинатумаба и инфузий донорских лимфоцитов.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, дети, острые лейкозы, нейробластома, минимальная остаточная болезнь

DOI: 10.17650/2311-1267-2017-4-2-91-99

Transplantation of hematopoietic stem cells in the Regional Children's Clinical Hospital № 1 in Ekaterinburg. Results of work for the period from 2006 to 2016

L.V. Vakhonina^{1,2}, I.N. Vyatkin¹, N.G. Maysheva¹, V.A. Pudovkin³, A.A. Igumenshev¹, E.V. Shorikov⁴, A.N. Zaichikov¹,
T.N. Popova¹, O.V. Lemesheva¹, D.B. Chusovitin¹, O.V. Makarova¹, O.N. Popova¹, O.R. Arakaev^{1,2}, Yu.N. Zhukova¹,
O.V. Streneva^{1,2}, A.A. Vlasova¹, T.N. Redreeva¹, T.Yu. Verzhbitskaya^{1,2}, A.M. Popov⁵, O.V. Nikulina^{1,2}, A.S. Demina^{1,2},
T.O. Riger^{1,2}, O.Yu. Medvedev^{1,2}, A.E. Drui^{2,5}, L.I. Saveliev^{1,6}, G.A. Tsaur^{1,2,6,7}, L.G. Fechina^{1,2}

¹Regional Children's Clinical Hospital № 1; 32 Seraphimy Deryabinoy St., Yekaterinburg, 620149, Russia; ²Institute of Medical Cell Technologies; 22A Karla Marksa St., Yekaterinburg, 620026, Russia; ³Family Medicine Center; 1/3 Nachdiva Vasilieva St., Yekaterinburg, 620043, Russia; ⁴PET-Technology; Bld. 8, 29 Soboleva St., Yekaterinburg, 620905, Russia; ⁵Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia; ⁶Ural State Medical University Ministry of Health of Russia; 3 Repina St., Yekaterinburg, 620030, Russia; ⁷Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 106 Pervomaiskaya St., Yekaterinburg, 620049, Russia

This article represents results of work of Center of pediatric oncology and hematology of Regional pediatric clinical hospital № 1 of Yekaterinburg on Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) during the period 2006–2016. One hundred seventeen HSCT performed during this time including 70 autologous, 33 allogenic, 14 haploidentical at patients with solid tumors ($n = 55$), acute leukemias ($n = 27$), lymphomas ($n = 9$), non-malignant diseases ($n = 11$). Results of treatment depending on type of disease and HSCT were shown. It was indicated that presence of minimal residual disease (MRD) before HSCT in case of leukemia and neuroblastoma was indicated as negative prognosis. Possible way of treatment of persistent MRD after HSCT with the help of blinatumomab and donor lymphocytes infusion showed.

Key words: transplantation of hematopoietic stem cells, children, acute leukemia, neuroblastoma, minimal residual disease

Введение

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) — высокотехнологичный этап лечения многих злокачественных заболеваний, а также ряда незлокачественных болезней, сопровождающихся депрессией одного или нескольких ростков кроветворения.

В 2006 г. после завершения строительства и оснащения нового здания Центра детской онкологии и гематологии ГБУЗ СО «Областная клиническая больница № 1» (Екатеринбург) в его структуре было сформировано отделение интенсивной терапии, реанимации с блоком трансплантации костного мозга (КМ). Отделение располагает 6 специализированными боксированными палатами для проведения ТГСК у детей и подростков до 18 лет. Также в структуре Центра были созданы чистые помещения для манипуляций с трансплантатом, иммуномагнитной селекции/деплеции, криоконсервирования и долгосрочного низкотемпературного хранения гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в жидком азоте. С первых лет работы Центр детской онкологии и гематологии активно сотрудничал с региональными регистрами доноров КМ. Первая трансплантация от неродственного полностью совместимого донора из российского регистра (ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови») была проведена в Центре детской онкологии и гематологии в августе 2007 г. Объединение региональных регистров и создание единого Национального регистра доноров КМ значительно увеличило шансы на положительный результат поиска неродственных доноров [1]. В 2015 г. в рамках договора о совместной деятельности между Национальным научно-практическим центром детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева (ННПЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева), немецким регистром неродственных доноров имени Штефана Морша и ГБУЗ СО «ОДКБ № 1» Екатеринбурга пациентке с анемией Фанкони проведена ТГСК от неродственного донора из этого европейского регистра. Сотрудничество было продолжено, и в феврале 2017 г. успешно проведена ТГСК от неродственного донора из Германии пациенту с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ).

Результаты

За период с октября 2006 по декабрь 2016 г. было выполнено 117 ТГСК. Нозологическая структура заболеваний и виды выполненных ТГСК приведены в таблице. Среди пациентов с острыми лейкозами в первой ремиссии трансплантировано 8 пациентов, во 2-й — 21, в 3-й — 4, вне ремиссии — также 4.

Результаты трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с солидными опухолями

В число солидных опухолей ($n = 55$) вошли

Нозологическая структура заболеваний и типы выполненных ТГСК

Тип ТГСК	Солидные опухоли	Острые лейкозы и лимфомы	Незлокачественные заболевания	Всего
Аутологичная (ауто-ТГСК)	62	8	—	70
Аллогенная (алло-ТГСК), в том числе				
от полностью совместимого родственного донора	—	8	8	16
от полностью совместимого неродственного донора	—	12	3	15
гаплоидентичная	—	14	—	14
пуповинная кровь	—	2	—	2
Итого	62	44	11	117

29 случаев нейробластомы (НБ) 4-й стадии, 14 случаев генерализованной саркомы Юинга, 7 случаев медуллобластомы, 2 случая гепатобластомы, 2 случая герминогенных опухолей, 1 случай светлоклеточной саркомы почки. Большинству пациентов с опухолями центральной нервной системы и гепатобластомой выполнялись tandemные ауто-ТГСК. Кондиционирование включало в себя высокие дозы карбоплатина и этопозида, мелфалан, бусульфан; с 2014 г. используется треосульфат. Медиана количества перелитых CD34⁺-клеток на 1 кг массы тела больного составила $7,8 \times 10^6$ (диапазон — 2,8–18,5). Результаты лечения с использованием ТГСК в этой группе пациентов представлены на рис. 1. Девятилетняя общая (ОВ) и бессобытийная выживаемость (БСВ) составили $0,32 \pm 0,14$ и $0,48 \pm 0,09$ соответственно (рис. 1а). В этой группе было 2 летальных исхода, ассоциированных с трансплантационным лечением (Transplant-related mortality, TRM); кумулятивная вероятность TRM составила $0,04 \pm 0,03$ (рис. 1б).

Части пациентов с диагнозом НБ и инициальным поражением КМ ($n = 12$) была выполнена иммуномагнитная селекция CD34⁺-клеток на аппарате Clinimacs Plus (Miltenyi Biotec, Германия) [2]. Результаты терапии в этой группе пациентов оказались достоверно хуже, чем у 16 больных аналогичной группы, но без CD34⁺-селекции (рис. 2). Вероятной причиной этого является, то, что CD34⁺-селекция проводилась пациентам с инициальным поражением КМ, большинство из которых на момент ауто-ТГСК имели сохраняющуюся минимальную остаточную болезнь (МОБ). При этом время приживления ней-

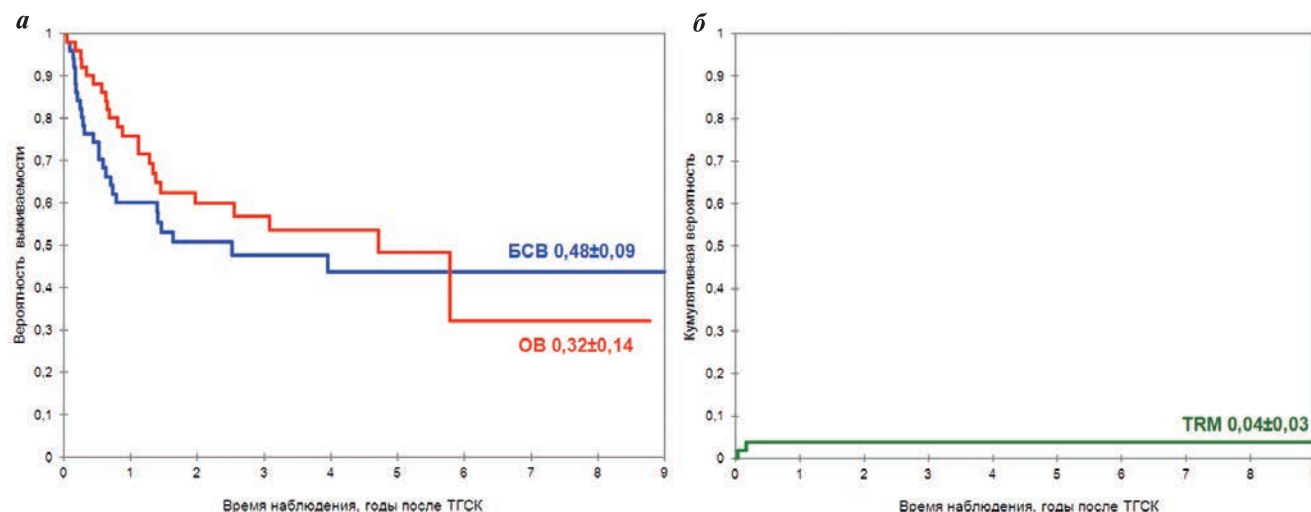


Рис. 1. Результаты ТГСК у пациентов с солидными опухолями: а – БСВ и ОВ; б – ТРМ

трофилов (медиана – 12 дней, диапазон – 9–40 дней) и тромбоцитов (медиана – 24 дня, диапазон – 11–62 дня) статистически значимо не отличались по сравнению с пациентами без селекции: медиана времени приживания нейтрофилов – 12 дней (диапазон – 9–14 дней) ($p = 0,2510$), тромбоцитов – 16 дней (диапазон – 11–46 дней) ($p = 0,1778$). В то же время количество (медиана) перелитых $CD34^+$ -клеток было даже несколько выше у пациентов с селекцией – $12,6 \times 10^6/\text{кг}$ и $7,9 \times 10^6/\text{кг}$ соответственно, но различия были статистически недостоверными ($p = 0,1330$).

Начиная с 2010 г., пациентам с НБ наряду со стандартным цитологическим исследованием КМ прово-

дится определение экспрессии опухолеспецифичных маркеров – экспрессии генов *ТН* и *РНОХ2В* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) [3–5]. Это позволяет выявлять поражение КМ с высокой аналитической чувствительностью. Исследование экспрессии данных генов в продуктах афереза периферических стволовых клеток дает возможность определять их минимальную контаминацию опухолевыми клетками [6]. Двадцати девяти пациентам с НБ высокого риска и инициальным поражением КМ было выполнено исследование экспрессии генов *РНОХ2В* и *ТН* в препаратах периферических стволовых клеток, а также в КМ перед

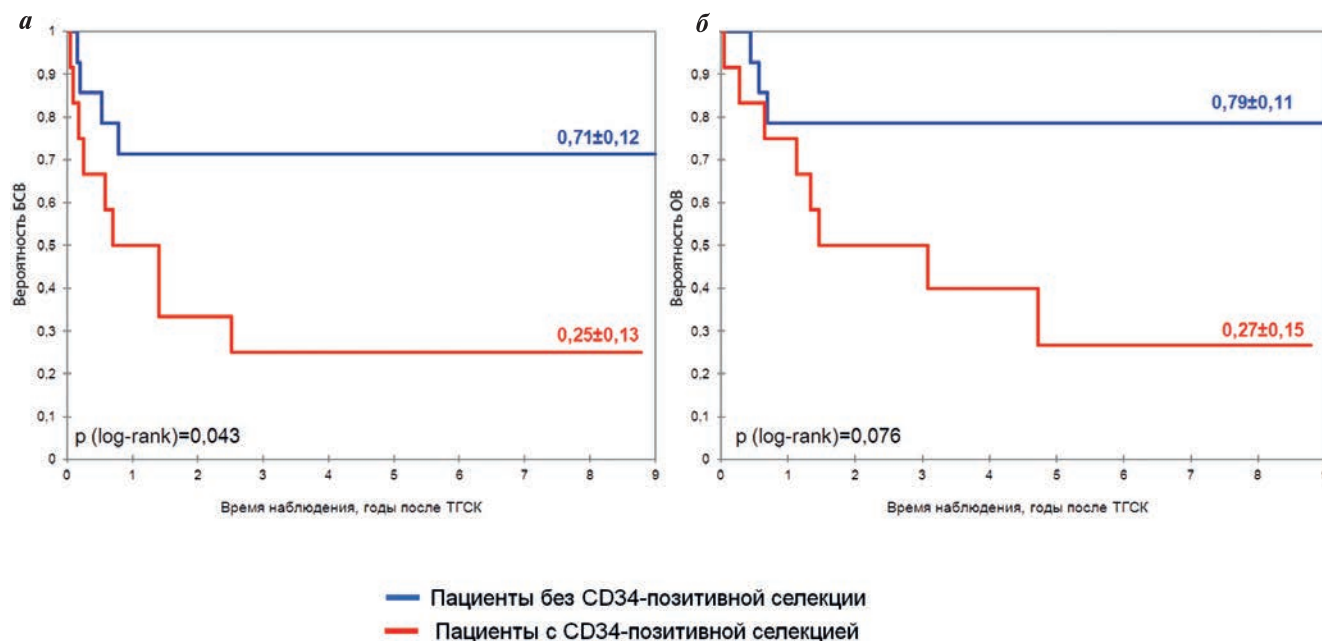


Рис. 2. Результаты ТГСК у пациентов с НБ в зависимости от проведения $CD34^+$ -селекции: а – БСВ; б – ОВ

процедурой афереза клеток для последующей аутологичной трансплантации. В 12 случаях была выполнена CD34-позитивная иммуномагнитная селекция. При этом ни в одном случае экспрессия генов *RHOX2B* и *ТН* в образцах аутоотрансплантатов не была выявлена вне зависимости от проведения процедуры иммуномагнитной селекции. В то же время у 6 (20,7 %) пациентов перед процедурой лейкофереза в КМ была выявлена экспрессия гена *RHOX2B*, у 7 (24,1 %) пациентов — *ТН*. Прогноз у данных больных был фатальным: долгосрочная БСВ составила $0,14 \pm 0,13$, а ОВ — $0,00$, тогда как у пациентов, достигших молекулярной ремиссии в КМ, показатели составили $0,30 \pm 0,15$ и $0,45 \pm 0,16$ соответственно, для обоих значений $p = 0,003$ (рис. 3). У 5 (17,2 %) пациентов экспрессия генов *RHOX2B* и *ТН* в КМ сохранялась на протяжении всей терапии, что свидетельствовало о персистенции в организме химиорезистентного клона опухолевых клеток.

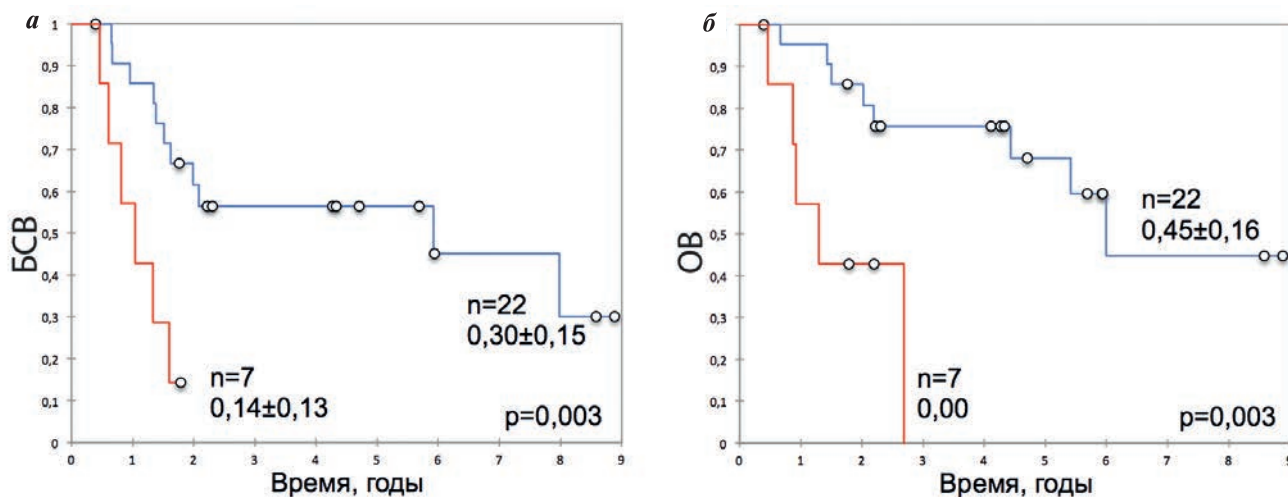


Рис. 3. Результаты терапии пациентов с НБ в зависимости от выявления экспрессии генов *RHOX2B* и *ТН* перед процедурой афереза. Кривые красного цвета — пациенты с наличием экспрессии; кривые синего цвета — пациенты, у которых экспрессия не была выявлена: а — БСВ; б — ОВ

Результаты аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с острыми лейкозами

Среди пациентов из группы острых лейкозов, получивших алло-ТГСК, было 12 пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), 4 — с ОМЛ. Преимущественно проводилось миелоаблативное кондиционирование с использованием бусульфана (с 2014 г. — тресульфана), флударабина, мелфалана или тиотепы. Профилактика реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) включала в себя сочетание циклоспорина (с 2010 г. — такролимуса) и метотрексата. При проведении ТГСК от неродственных и гаплоидентичных родственных доноров в режим кондиционирования, как правило, включался лошадиный анти timoцитарный иммуноглобулин (АТГАМ)

и лишь в 1 случае использовался АТГ-Фрезениус. Посттрансплантационная профилактика дополнялась микофенолата мофетилом. Медиана количества перелитых CD34⁺-клеток на 1 кг массы тела пациента составила $6,90 \times 10^6$ (диапазон — $2,80-9,20 \times 10^6$). Медиана времени до приживления нейтрофилов составила 14 дней (диапазон — 10–20 дней), тромбоцитов — 15 дней (диапазон — 11–31 день).

ОВ и БСВ в этой группе составили $0,58 \pm 0,16$ и $0,56 \pm 0,16$ соответственно (рис. 4а). TRM — $0,20 \pm 0,14$ (рис. 4б). Острой РТПХ III–IV степени в этой группе не зафиксировано. Кумулятивная частота развития распространенной хронической РТПХ — $0,13 \pm 0,09$.

Опыт трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом

Отдельно хотелось бы остановиться на результатах терапии 2 пациенток с ювенильным миеломоноци-

тарным лейкозом (ЮММЛ). Обе больных до ТГСК получали химиотерапию: 1-я пациентка — монотерапию 6-меркаптопурином, 2-я — курсы низкодозированного цитозара и 13-цис-Ретиноевую кислоту. У 1-й пациентки срок от установления диагноза до ТГСК составил 8 мес, на момент кондиционирования статус заболевания оценивался как «активное заболевание». Ей проведена ТГСК от родственного НЛА-идентичного донора. Через 3 мес констатирован рецидив заболевания с симптомами отторжения трансплантата. Пациентке проведена повторная ТГСК от этого же донора с посттрансплантационным введением циклофосфана в качестве профилактики РТПХ. В настоящее время ребенок находится в ремиссии основного заболевания, без проявлений РТПХ, с хорошим качеством жизни. Период наблюдения — 2 года. Второй пациентке проведена гаплоидентичная ТГСК

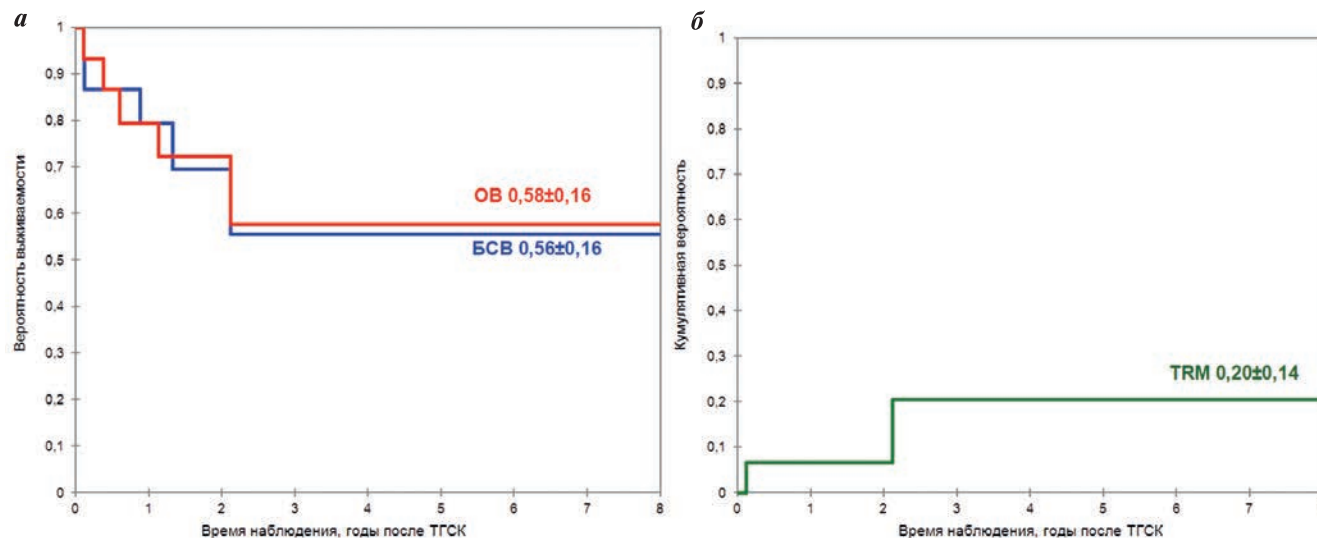


Рис. 4. Результаты алло-ТГСК у пациентов с острыми лейкозами: а – БСВ и ОБ; б – TRM

неманипулированного КМ с посттрансплантационным введением циклофосфана. В настоящее время у ребенка проявления кишечной РТПХ II степени, проводятся иммуносупрессивная и сопроводительная терапия. Период наблюдения – 7 мес.

Результаты трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с незлокачественными заболеваниями

В группу пациентов с незлокачественными заболеваниями вошли 7 больных со сверхтяжелой приобретенной апластической анемией, 2 с анемией Фанкони, 1 пациент с талассемией, 1 с синдромом Ниймеген. У 7 пациентов донорами стали сиблинги и 4 детям ТГСК проведена от HLA-идентичных неродственных доноров. В 5 случаях источником ГСК был КМ и в 6 – периферическая кровь. Режимы кондиционирования содержали флударабин, циклофосфан, АТГАМ для пациентов с приобретенной апластической анемией, дополнительно низкие дозы бусульфана применялись у пациентов с анемией Фанкони и синдромом Ниймеген. Пациенту с талассемией проведено миелоаблативное кондиционирование: бусульфан, циклофосфан, АТГАМ. Профилактика РТПХ в большинстве случаев проводилась с использованием такролимуса и метотрексата. Пациенты после трансплантации от неродственных доноров получали дополнительно микрофенолата мофетил. У всех пациентов зафиксировано приживление трансплантата. Медиана количества перелитых $CD34^+$ -клеток составила $7,45 \times 10^6/\text{кг}$ (диапазон – $2,00\text{--}11,00 \times 10^6/\text{кг}$). Медиана времени до приживления нейтрофилов – 15 дней (диапазон – 6–18 дней), тромбоцитов – 18 дней (диапазон – 11–31 день).

Все пациенты с незлокачественными заболеваниями, которым была проведена ТГСК, живы. ОБ со-

ставляет 1,0. Кумулятивная частота развития острой РТПХ III–IV степени – $0,09 \pm 0,08$, распространенной хронической РТПХ – $0,10 \pm 0,08$. Наблюдение за этой группой пациентов показало зависимость развития тяжелой РТПХ от быстрого достижения полного донорского химеризма на день +28 [7], и, наоборот, длительное сохранение смешанного химеризма у больных этой группы было ассоциировано с отсутствием тяжелых форм РТПХ.

Результаты гаплоидентичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

В 9 случаях гаплоидентичной ТГСК проведена деплеция $CD3/CD19^+$ -клеток, которая позднее была заменена на $TCR\alpha\beta/CD19$ -деплецию. Медиана количества перелитых $CD34^+$ -клеток на 1 кг массы тела пациента составила $8,60 \times 10^6$ (диапазон – $5,10\text{--}14,70 \times 10^6$). Медиана количества перелитых $CD3^+$ -клеток – $5,0 \times 10^4$ (диапазон – $0,1\text{--}67,0 \times 10^4$). Медиана времени до приживления нейтрофилов – 15 дней (диапазон – 11–20 дней), тромбоцитов – 19 дней (диапазон – 11–26 дней). Результаты применения гаплоидентичной ТГСК показаны на рис. 5а. TRM составила $0,30 \pm 0,13$ (рис. 5б). Кумулятивная частота развития острой РТПХ III–IV степени – $0,08 \pm 0,09$, распространенная хроническая РТПХ в этой группе не зарегистрирована.

С 2016 г. начато проведение гаплоидентичной трансплантации неманипулированного КМ с посттрансплантационным введением циклофосфана. Данный вид ТГСК был выполнен у 5 пациентов, однако короткий срок наблюдения пока не позволяет сделать какие-либо определенные выводы о долгосрочных результатах такого вида трансплантации.

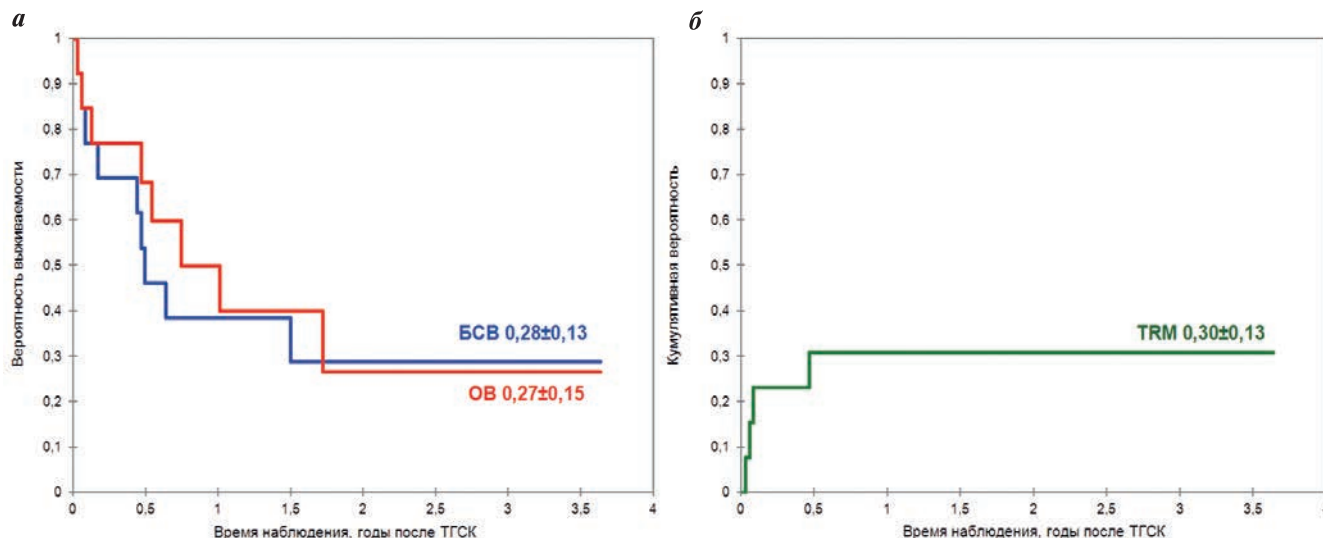


Рис. 5. Результаты гаплоидентичной ТГСК: а – БСВ и ОВ; б – ТРМ

Результаты трансплантации пуповинной крови

Пуповинная кровь в качестве источника ГСК была использована нами у 2 пациенток в возрасте 11 месяцев и 4 года. Количество перелитых ядросодержащих клеток составило $15,1$ и $13,5 \times 10^7/\text{кг}$ соответственно. В обоих случаях использовалась неродственная пуповинная кровь из Самарского банка пуповинной крови (ГБУЗ «Самарский областной медицинский центр «Династия»). Больная ОМЛ, трансплантированная в 11-месячном возрасте, жива в ремиссии со сроком наблюдения 6 лет. Четырехлетняя пациентка с анаплазированной Т-клеточной неходжкинской лимфомой погибла от прогрессии опухоли в ранние сроки после трансплантации.

Роль минимальной остаточной болезни при острых лейкозах

Всем пациентам с острыми лейкозами выполнялось определение МОБ методами проточной цитометрии, а при наличии химерного транскрипта или гиперэкспрессии гена *WT1* – методом ПЦР-РВ. БСВ 6 пациентов с ОЛЛ МОБ-положительных перед ТГСК составила $0,00$, а среди 16 МОБ-негативных больных – $0,49 \pm 0,13$ ($p = 0,214$). Кумулятивная вероятность развития рецидива в группе пациентов с ОЛЛ и наличием МОБ была $0,67 \pm 0,01$, МОБ-негативных – $0,30 \pm 0,11$ ($p = 0,584$) (рис. 6). Выявленная нами тенденция схожа с ранее опубликованными данными о негативной прогностической роли сохранения МОБ перед ТГСК.

Исключением из этой закономерности является 5-месячный пациент Ж. с диагнозом ОЛЛ, инициальным нейрорлейкозом и наличием транслокации $t(4;11)(q21;q23)$, получавший лечение по протоколу MLL-Baby. Несмотря на достижение клинко-гематологической ремиссии к окончанию индукционной

терапии на 36-й день, у пациента длительное время сохранялась МОБ, а после протокола II произошло значительное нарастание ее величины. Нами ранее было показано неблагоприятное значение МОБ в рамках протокола MLL-Baby [8, 9]. На основании этого было принято решение о проведении ТГСК от HLA-идентичного родственного донора. Кондиционирование включало бусульфан, этопозид, циклофосфамид. Трансплантат содержал $7,1 \times 10^6/\text{кг}$ $\text{CD}34^+$ -клеток. Профилактика РТПХ проводилась такролимусом и метотрексатом. Приживление состоялось на день +21. Однако на день +28 после ТГСК была вновь выявлена МОБ в КМ. Пациент получил таргетную терапию препаратом блинатумомаб в сочетании с инфузией донорских лимфоцитов. После 2 курсов с блинатумомабом МОБ не определялась как методом многоцветной проточной цитометрии, так и методом ПЦР-РВ. В настоящее время пациент находится в стойкой ремиссии со сроком наблюдения после последней инфузии донорских лимфоцитов – 1 год. Результаты определения МОБ методами многоцветной проточной цитометрии и ПЦР-РВ с выявлением нормализованного количества химерного транскрипта *MLL-AF4* до и после ТГСК, а также посттрансплантационного донорского химеризма представлены на рис. 7.

Реактивация вирусов группы герпеса после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Известно, что частым осложнением ТГСК, особенно гаплоидентичной, является реактивация вирусов группы герпеса: цитомегаловируса (ЦМВ), вируса простого герпеса 6-го типа (ВПГ 6-го типа), вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) [10].

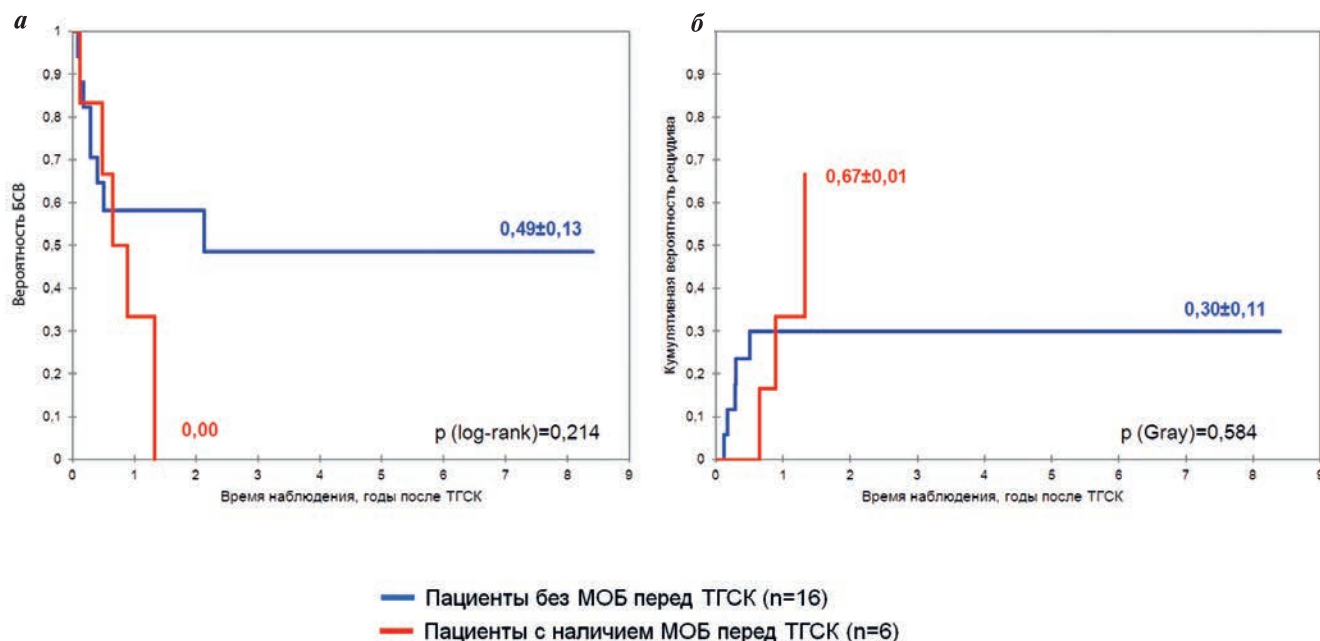


Рис. 6. Результаты ТГСК у пациентов с ОЛЛ в зависимости от наличия МОБ: а — БСВ; б — кумулятивная вероятность рецидива

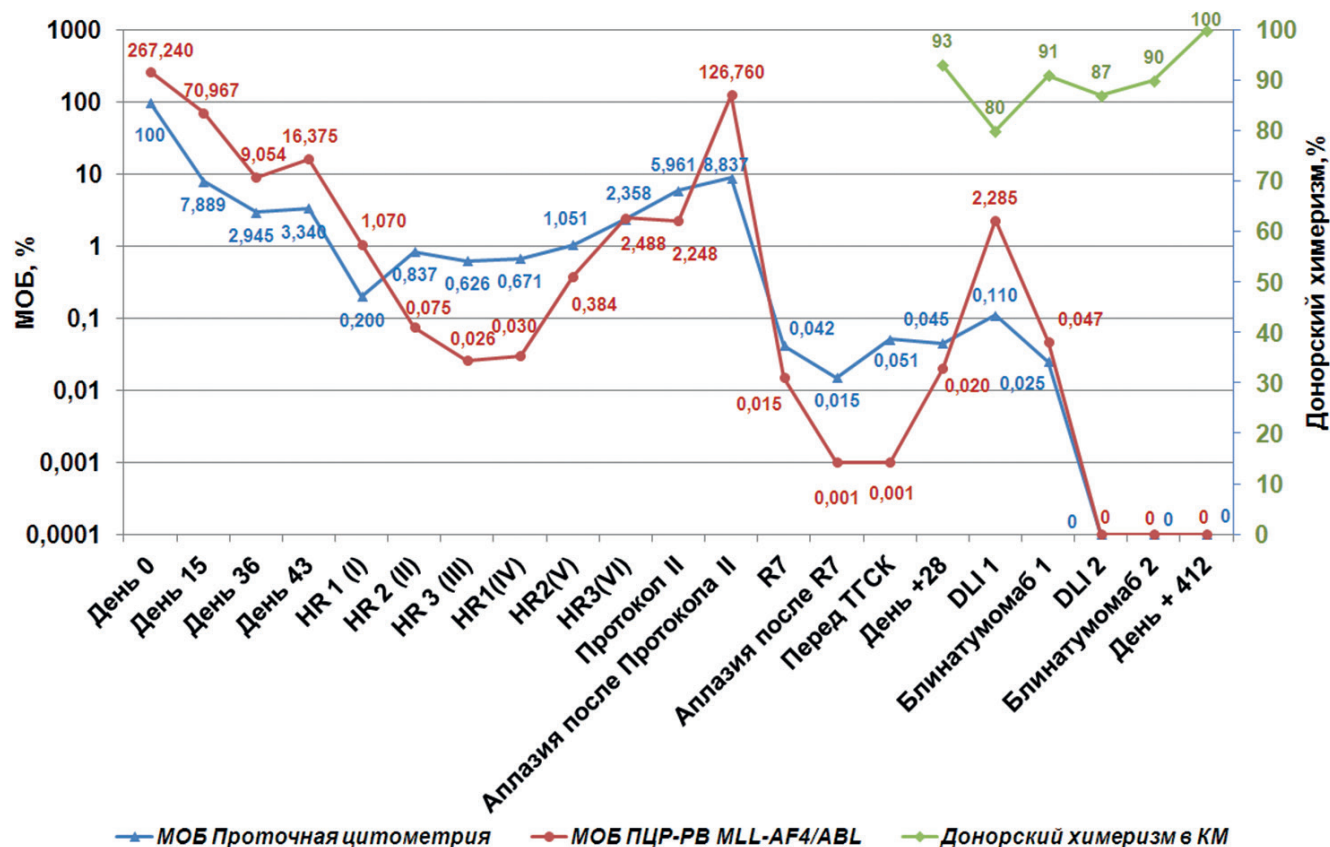


Рис. 7. Результаты определения МОБ методами многоцветной проточной цитометрии и ПЦР-РВ с выявлением химерного транскрипта MLL-AF4 до и после ТГСК, а также посттрансплантационного донорского химеризма

По нашим данным, кумулятивная вероятность реактивации ЦМВ после ТГСК составила 14,8 %, ВЭБ – 22,0 %, ВПГ 6-го типа – 44,0 % (рис. 8). В ряде случаев имела место микст-инфекция [11].

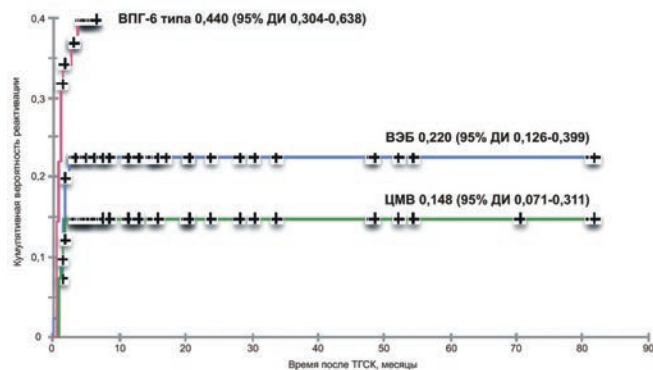


Рис. 8. Кумулятивная вероятность реактивации вирусов группы герпеса у пациентов после аллогенной и гаплоидентичной ТГСК

Для оценки возможного пути передачи с препаратами крови этих вирусов нами методом ПЦР-РВ были обследованы 83 донора тромбоцитов, а также продукты тромбоцитозереза после сбора на аппарате Наemonetics и фильтрации. Несмотря на выявление ВЭБ и ВПГ 6-го типа в цельной крови доноров (19,2 % и 2,4 % соответственно), ни в одном случае эти вирусы, а также ЦМВ не были обнаружены в тромбоконцентрате, что исключает гематогенный путь передачи [12].

Технология замораживания гемопоэтических стволовых клеток

Для сохранности ГСК нами была отработана технология криоконсервирования с использованием раствора декстрана с молекулярной массой от 50 000 до 70 000 Да и замораживания на программном замораживателе Ice-cube 15M (Sy-Lab, Австрия). Были подобраны оптимальные условия, компенсирующие экзотермический выброс в момент кристаллизации (рис. 9, 10) [13]. При этом жизнеспособность размороженных ГСК, оцениваемая с использованием 7-AAD на проточном цитометре, составила более 97 %.

В заключение хочется подчеркнуть, что имеющиеся в Центре детской онкологии и гематологии ГБУЗ СО «ОДКБ № 1» трансплантационные мощности, возможности сопроводительной терапии и самые

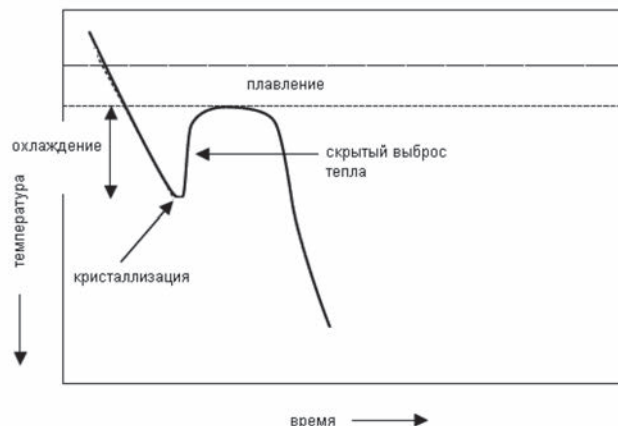


Рис. 9. Выброс тепла в клетке в момент кристаллизации

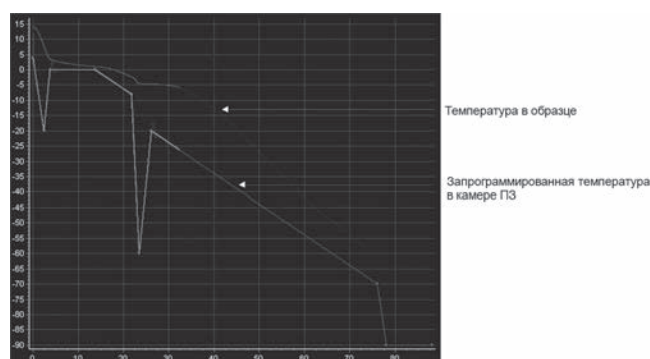


Рис. 10. Кривые замораживания с нормализацией экзотермического выброса

современные лабораторные технологии позволяют проводить ТГСК не только пациентам из Свердловской области, но и детям, проживающим в других регионах РФ.

Благодарности

Авторы выражают благодарность коллегам из ННПЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, участвовавшим в становлении технологии ТГСК в ОДКБ № 1 г. Екатеринбурга, и в первую очередь — А.А. Масчану, М.А. Масчану, Л.Н. Шелеховой и Д.Н. Балашову, а также всем сотрудникам Отдела детской онкологии и гематологии ГБУЗ СО «ОДКБ № 1».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаренко О.А., Алянский А.Л., Иванова Н.Е. и др. Эффективность поиска неродственного донора гемопоэтических стволовых клеток с помощью российской поисковой системы Bone Marrow Donor Search: Опыт НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им Р.М. Горбачевой. Клиническая онкогематология 2017;10(1):39–44. [Makarenko O.A., Alyanskiy A.L., Ivanova N.E. et al. Effectiveness of Search for an Unrelated Donor of Hematopoietic Stem Cells using Russian Date Base "Bone Marrow Donor Search": Experience of Raisa Gorbacheva Memorial Institute for Children Oncology, Hematology and Transplantation. Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology 2017;10(1):39–44. (In Russ.)].
2. Яковлева Ю.А., Цаур Г.А., Шориков Е.В. и др. Опыт получения высокоочищенной фракции CD34-клеток периферической крови и костного мозга и их аутооттрансплантация детям с нейробластомой. Онкогематология 2008;3(4):80. [Yakovleva Yu.A., Tsaur G.A., Shorikov E.V. et al. Experience in obtaining a highly purified fraction of CD34 cells from peripheral blood and bone marrow and their autologous transplantation to children with neuroblastoma. Onkogematologiya = Oncohematology 2008;3(4):80. (In Russ.)].
3. Stutterheim J., Gerritsen A., Zappeij-Kannegieter L. et al. PHOX2B is a novel and specific marker for minimal residual disease testing in neuroblastoma. J Clin Oncol 2008;26:5443–9.
4. Друй А.Е., Цаур Г.А., Попов А.М. и др. Исследование возможности определения экспрессии генов *TH*, *ELAVL4* и *GD2* для оценки поражения костного мозга у пациентов с нейробластомой. Вопросы онкологии 2012;58(4):514–20. [Druy A.E., Tsaur G.A., Popov A.M. et al. Study of the possibility of determining expression of *TH*, *ELAVL4* and *GD2* genes for estimation of brain brain in patients with neuroblastoma. Voprosy onkologii = Problems in Oncology 2012;58(4):514–20. (In Russ.)].
5. Друй А.Е., Шориков Е.В., Цаур Г.А. и др. Прогностическое значение определения поражения костного мозга у пациентов с нейробластомой на основании экспрессии генов. Вопросы онкологии 2014;60(2):57–62. [Druy A.E., Shorikov E.V., Tsaur G.A. et al. Prognostic value of bone marrow involvement in patients with neuroblastoma based on gene expression. Voprosy onkologii = Problems in Oncology 2014;60(2):57–62. (In Russ.)].
6. Van Wezel E.M., Stutterheim J., Vree F. et al.; GPOH MRD Study Group. Minimal residual disease detection in autologous stem cell grafts from patients with high risk neuroblastoma. Pediatr Blood Cancer 2015;62:1368–73.
7. Vakhonina L., Vyatkin I., Maysheva N. et al. Influence of mixed chimerism to outcome of allogeneic stem cell transplantation (alloSCT) in patients with non-malignant diseases. 43rd Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation, Physicians Poster Abstracts, Day 2. Abs. B122. P. 105.
8. Цаур Г.А., Попов А.М., Наседкина Т.В. и др. Прогностическое значение минимальной остаточной болезни, определенной путем выявления химерных транскриптов у детей первого года жизни, больных острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколу MLL-Baby. Гематология и трансфузиология 2012;57(4):12–22. [Tsaur G.A., Popov A.M., Nasedkina T.V. et al. Prognostic significance of the minimal residual disease evaluated by detection of MLL fusion gene transcripts in infants under 1 year of age with acute lymphoblastic leukemia treated by the MLL-Baby protocol. Gematologiya i Transfusiologiya = Hematology and Transfusiology 2012;57(4):12–22. (In Russ.)].
9. Цаур Г.А., Попов А.М., Фечина Л.Г., Румянцев С.А. Методические основы диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах у детей первого года жизни. Онкогематология 2016;11(1):62–74. [Tsaur G.A., Popov A.M., Fechina L.G., Rumyantsev S.A. Methodological aspects of diagnostics and minimal residual disease monitoring in infant acute leukemias. Onkogematologiya = Oncohematology 2016;11(1):62–74. (In Russ.)].
10. Laberko A., Bogoyavlenskaya A., Shelikhova L. et al. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR- α/β - and CD19-Depleted Grafts. Biol Blood Marrow Transplant 2017;23(3):483–90.
11. Вахонина Л.В., Вяткин И.Н., Майшева Н.Г. и др. Эффективное лечение смешанной вирусной инфекции у пациента после гаплоидентичной трансплантации стволовых клеток. Клеточная терапия и трансплантация 2016;5(1):99. [Vakhonina L.V., Vyatkin I.N., Maysheva N.G. et al. Effective treatment of mixed viral infection in a patient after haploidentical stem cell transplantation. Kletochnaya terapiya i transplantaciya = Cellular Therapy and Transplantation 2016;5(1):99. (In Russ.)].
12. Tsaur G., Vakhonina L., Glebova T. et al. CMV, EBV and HHV-6 reactivation after allogeneic stem cell transplantation does not linked to viral contamination of apheresis platelet concentrates. 43rd Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation, Physicians Poster Abstracts, Day 1. Abs. A307. P. 342.
13. Яковлева Ю.А., Цаур Г.А., Вержбицкая Т.Ю. и др. Выбор оптимальной стратегии криоконсервирования гемопоэтических стволовых клеток. Вестник Уральской медицинской академической науки 2008;22(4):86–8. [Yakovleva Yu.A., Tsaur G.A., Verzhbitskaya T.Yu. et al. Choice of the optimal strategy of cryopreservation of hematopoietic stem cells. Vestnik Uralskoy medicinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Science 2008;22(4):86–8. (In Russ.)].