

Клинические и лабораторные особенности сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей раннего возраста с солидными злокачественными новообразованиями весом 15 кг и менее

Н.Г. Степанян¹, Н.В. Матинян¹, А.С. Слинин², Г.Б. Сагоян¹, А.Д. Палладина¹, М.В. Рубанская¹, Н.В. Сидорова³, Е.Б. Мачнева^{1,3}, К.И. Киргизов¹, С.Р. Варфоломеева¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

³Российская детская клиническая больница ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; Россия, 117997, Москва, Ленинский просп., 117

Контактные данные: Нара Гарегиновна Степанян nara19922@yandex.ru

Актуальность. Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) является неотъемлемой частью терапии пациентов со злокачественными новообразованиями высокой группы риска. Однако проведение мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для пациентов весом до 15 кг является сложной задачей, которая требует особого подхода и мультидисциплинарного взаимодействия.

Цель исследования — представление опыта сбора ГСК у детей раннего возраста весом до 15 кг в НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Материалы и методы. В исследование включены 30 пациентов с массой тела до 15 кг, получавших лечение с января 2020 г. по май 2021 г. в НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Медиана возраста составила 30,6 (12–48) мес, медиана массы тела — 12,2 (7,8–15) кг. Аферезы у детей весом до 15 кг выполнялись в отделении реанимации и интенсивной терапии с условием предварительного заполнения контура клеточного сепаратора донорской облученной эритроцитной взвесью для профилактики гиповолемических осложнений. Было проведено 32 афереза на клеточном сепараторе типа «Спектра Оптика». Для мобилизации ГСК применялись препараты гранулоцитарного колониестимулирующего фактора с основным действующим веществом филграстим.

Результаты. Двадцать восемь процедур афереза ГСК были успешными с первой попытки, 2 пациентам проведен повторный аферез (итого выполнено 32 процедуры). Медиана количества полученных CD34⁺-клеток составила $13,9 \times 10^6/\text{кг}$ (0,04–92,0 $\times 10^6/\text{кг}$), медиана продолжительности афереза — 251 (160–415) мин. У 2 детей в процессе процедуры потребовалась немедленная организация повторного венозного доступа.

Выводы. Выполнение афереза ГСК у детей с весом до 15 кг и раннего возраста является безопасной и эффективной методикой при участии мультидисциплинарной команды. Предложенный нами алгоритм афереза позволяет осуществить качественный сбор CD34⁺-клеток, достаточный для проведения ауто-ТГСК.

Ключевые слова: гемопоэтические стволовые клетки, аферез, дети, мобилизация, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, высокодозная химиотерапия

Для цитирования: Степанян Н.Г., Матинян Н.В., Слинин А.С., Сагоян Г.Б., Палладина А.Д., Рубанская М.В., Сидорова Н.В., Мачнева Е.Б., Киргизов К.И., Варфоломеева С.Р. Клинические и лабораторные особенности сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей раннего возраста с солидными злокачественными новообразованиями весом 15 кг и менее. Российский журнал детской гематологии и онкологии. 2022;9(1):21–8.

Информация об авторах

Н.Г. Степанян: врач-трансфузиолог отделения детской онкологии и гематологии с блоком трансплантации костного мозга НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: nara19922@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7939-5129>

Н.В. Матинян: д.м.н., профессор, заведующая отделением анестезиологии-реанимации и интенсивной терапии НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: n9031990633@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7805-5616>

А.С. Слинин: заведующий научно-организационным отделом по работе с регионами НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: alekseislinin@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-2021-0465>

Г.Б. Сагоян: научный сотрудник, врач-детский онколог детского онкологического отделения хирургических методов лечения с проведением химиотерапии № 2 (опухолей торакоабдоминальной локализации) НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: sagoyan-garik@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7846-3473>, SPIN-код: 6304-0159

А.Д. Палладина: врач клинической лабораторной диагностики лаборатории иммунологии гемопоэза НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: alexandra.93@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9400-7347>

М.В. Рубанская: к.м.н., старший научный сотрудник детского онкологического отделения хирургических методов лечения с проведением химиотерапии № 2 (опухолей торакоабдоминальной локализации) НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: marishvecova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1016-539X>

Н.В. Сидорова: врач-анестезиолог-реаниматолог отделения трансплантации костного мозга РДКБ РНИМУ им. Н.И. Пирогова, e-mail: valerevna25@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3797-5808>, SPIN-код: 7729-5713

Е.Б. Мачнева: к.м.н., врач-гематолог отделения детской онкологии и гематологии с блоком трансплантации костного мозга НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, врач-гематолог отделения трансплантации костного мозга РДКБ РНИМУ им. Н.И. Пирогова, e-mail: lena.machneva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2395-4045>, SPIN-код: 6143-8644

К.И. Киргизов: к.м.н., заместитель директора по научной и образовательной работе НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: k.kirgizov@ronc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2945-284X>
С.Р. Варфоломеева: д.м.н., профессор, директор НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: s.varfolomeeva@ronc.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6131-1783>

Вклад авторов

Н.Г. Степанян: разработка дизайна статьи, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста статьи, подготовка списка литературы, составление резюме

Н.В. Матинян, А.С. Слинин: анализ полученных данных, изучение разных групп пациентов

Г.Б. Сагоян, А.Д. Палладина, М.В. Рубанская, Н.В. Сидорова, Е.Б. Мачнева: предоставление теоретических и лабораторных данных

К.И. Киргизов: руководитель проекта, разработка дизайна статьи, научное редактирование статьи

С.Р. Варфоломеева: разработка дизайна статьи, научное редактирование статьи

Clinical features of methods for collecting hematopoietic stem cells in patients with malignant neoplasms weighing up to 15 kg and early age

N.G. Stepanyan¹, N.V. Matinyan¹, A.S. Slinin², G.B. Sagoyan¹, A.D. Palladina¹, M.V. Rubanskaya¹, N.V. Sidorova³, E.B. Machneva^{1,3}, K.I. Kirgizov¹, S.R. Varfolomeeva¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia;

²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia;

1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia; ³Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 117 Leninskiy Prosp., Moscow, 117997, Russia

Relevance. Autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT) is an integral part of the treatment of patients with high-risk malignancies. However, carrying out the mobilization and collection of hematopoietic stem cells (HSC) for patients weighing up to 15 kg is a complex task that requires a special approach and multidisciplinary interaction.

The purpose of the study is to present the experience of collecting HSC in young children weighing up to 15 kg at the Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology of the Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Ministry of Health of Russia.

Materials and methods. The study included 30 patients weighing up to 15 kg who received treatment from January 2020 to May 2021 at the Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology of the Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Ministry of Health of Russia. Median age was 30.6 (12–48) months, median body weight was 12.2 (7.8–15) kg. Apheresis in children weighing up to 15 kg was performed in the resuscitation and intensive care unit with the condition of pre-filling the cell separator circuit with a donor irradiated erythrocyte suspension to prevent hypovolemic complications. Thirty two apheresis was performed on a cell separator of the "Spectra Optia" type. To mobilize HSC, preparations of granulocyte colony-stimulating factor with the main active ingredient filgrastim were used.

Results. Twenty eight HSC apheresis procedures were successful on the first attempt, 2 patients underwent repeated apheresis (a total of 32 procedures were performed). The median number of CD34⁺ cells obtained was $13.9 \times 10^6/\text{kg}$ ($0.04\text{--}92.0 \times 10^6/\text{kg}$), and the median apheresis duration was 251 (160–415) min. In 2 children during the procedure, an immediate organization of repeated venous access was required.

Conclusions. Performing HSC apheresis in children weighing up to 15 kg and young children is a safe and effective technique with the participation of a multidisciplinary team. The apheresis algorithm proposed by us makes it possible to carry out a high-quality collection of CD34⁺ cells, sufficient for auto-HSCT.

Key words: hematopoietic stem cells, apheresis, children, mobilization, hematopoietic stem cell transplantation, high-dose chemotherapy

For citation: Stepanyan N.G., Matinyan N.V., Slinin A.S., Sagoyan G.B., Palladina A.D., Rubanskaya M.V., Sidorova N.V., Machneva E.B., Kirgizov K.I., Varfolomeeva S.R. Clinical features of methods for collecting hematopoietic stem cells in patients with malignant neoplasms weighing up to 15 kg and early age. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology. 2022;9(1):21–8.

Information about the authors

N.G. Stepanyan: Transfusiologist of the Department of Pediatric Oncology and Hematology with a Bone Marrow Transplant Unit of the Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology at N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: nara19922@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7939-5129>

N.V. Matinyan: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Anesthesiology and Resuscitation Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: n9031990633@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7805-5616>

A.S. Slinin: Head of Department for Scientific and Organizational Work with Regions at Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: alekseislinin@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-2021-0465>

G.B. Sagoyan: Researcher, Pediatric Oncologist of Pediatric Oncology Department of Surgical Methods of Treatment with Chemotherapy No. 2 (Tumors of Thoracoabdominal Localization) of Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology at N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: sagoyan-garik@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7846-3473>, SPIN-code: 6304-0159

A.D. Palladina: Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics of the Laboratory of Hematopoiesis Immunology N.N. Trapeznikov Clinical Oncology Research Institute of N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: alexandra.93@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9400-7347>

N.V. Sidorova: Anesthesiologist-resuscitator of the Department of Bone Marrow Transplantation at the Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, e-mail: valerevna25@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3797-5808>, SPIN-code: 7729-5713

E.B. Machneva: Cand. of Sci. (Med.), Hematologist Department of Pediatric Oncology and Hematology with a Bone Marrow Transplant Unit of the Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology at N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Hematologist Department of Bone Marrow Transplantation at the Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, e-mail: lena.machneva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2395-4045>, SPIN-code: 6143-8644

K.I. Kirgizov: Cand. of Sci. (Med.), Deputy Director for Scientific and Educational Work of Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: k.kirgizov@ronc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2945-284X>

S.R. Varfolomeeva: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Director of the Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: s.varfolomeeva@ronc.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6131-1783>

Authors' contributions

N.G. Stepanyan: article design development, review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained, writing the text of the article, preparation of a list of references, composing a resume

N.V. Matinyan, A.S. Slinin: analysis of the data obtained, analysis of different groups of patients

G.B. Sagoyan, A.D. Palladina, M.V. Rubanskaya, N.V. Sidorova, E.B. Machneva E.V. Ogorodnikova: provision of theoretical and laboratory data

K.I. Kirgizov: project leader, article design development, scientific edition of the article

S.R. Varfolomeeva: article design development, scientific edition of the article

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

Актуальность

Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) является неотъемлемой составляющей терапии злокачественных новообразований у детей. Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) периферической крови (ПК) являются одним из основных источников клеток-предшественников для проведения ауто-ТГСК [1]. Проведение сбора ГСК у детей с массой тела менее 15 кг и раннего возраста сопряжено с рядом рисков: низкий объем циркулирующей крови (ОЦК) и связанные с этим возможные осложнения в виде гемодинамических нарушений, частое развитие гиперкоагуляции в процессе афереза, сложности постановки центрального венозного доступа, который требует высокой квалификации службы анестезиологии-реанимации [2]. Для проведения ТГСК необходимо заготовить достаточное количество CD34⁺-клеток, не менее 1,5–2 × 10⁶/кг, что требует эффективной мобилизации и последующего проведения афереза. Одной из ключевых особенностей работы с маловесными детьми раннего возраста является проведение по возможности одного афереза, хотя и длительного [3].

На текущий момент опыт проведения аферезов у детей раннего возраста с низкой массой тела ограничен и требует всестороннего изучения. Нашей целью стало представление опыта сбора ГСК у детей раннего возраста весом до 15 кг в НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Материалы и методы

В статье приводится ретроспективный анализ аферезов, выполненных в НИИ детской онко-

логии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России за период с января 2020 г. по май 2021 г. у детей раннего возраста с массой тела до 15 кг. В целях проведения процедур был определен алгоритм, определяющий показания для ее выполнения, вопросы мобилизации и сбора ГСК.

В анализ были включены 30 пациентов с медианой возраста 30,6 (12–48) мес, медиана массы тела пациентов составила 12,2 (7,8–15,0) кг. Основные характеристики включенных в исследование больных представлены в табл. 1. Среди пациентов, которым было необходимо проведение афереза ГСК, в основном (73,3 %) преобладали дети с установленным диагнозом нейробластомы, что отражено на рис. 1.

Таблица 1. Обобщенные характеристики пациентов, включенных в исследование

Table 1. Generalized characteristics of patients included in the study

Характеристики Characteristics	Значение Significance
Число пациентов Number of patients	30
Пол Gender	
мужской male	13
женский female	17
Медиана возраста, мес Median of age, month	30,6 (12–48)
Медиана веса, кг Median of weight, kg	12,2 (7,8–15)
ОЦК (методика расчета соответствует рекомендациям Ассоциации анестезиологов США), мл Circulating blood volume (the calculation method complies with the recommendations of the Association of Anesthesiologists of the USA), ml	920 (585–1125)

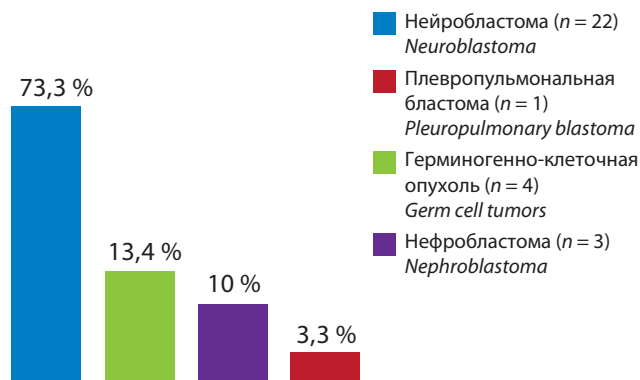


Рис. 1. Диагнозы пациентов, включенных в исследование

Fig. 1. Diagnoses of patients included in the study

Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток

Мобилизацию CD34⁺-клеток начинали всем пациентам при наличии восстановления лейкоцитарного роста после программы полихимиотерапии (ПХТ), начиная от показателя 0,8–1 тыс/мкл. Все дети, включенные в данное исследование, получили 2–4 блока химиотерапии (ХТ). Двум пациентам из 30 на момент старта мобилизации ГСК не санировали костный мозг на фоне ХТ. Для мобилизации использовались препараты гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ). В нашем исследовании применялся филграстим 3 различных производителей (Нейпомакс, ОАО «ФАРМСТАНДАРТ-УфаВита», Россия; Лейкостим, ЗАО «Биокад», Россия; Зарсио, Ай Ди Ти Биология ГмБХ, Германия) в режиме дозирования 10 мкг/кг подкожно в сутки в утренние часы с ежедневным контролем прироста количества лейкоцитов в ПК и контролем CD34⁺ с использованием иммунофенотипирования (ИФТ) клеток с 3-го дня мобилизации. При низком количестве клеток CD34⁺ решался вопрос об эскалации дозы Г-КСФ или включения в режим мобилизации дополнительных агентов, таких как антагонисты CXCR-4 (плериксафор).

Подготовка пациента к процедуре афереза гемопоэтических стволовых клеток

Процедура сбора ГСК проводится на следующий день после достижения необходимого уровня CD34⁺ в ПК по данным ИФТ. Успешным значением мобилизации в клиническом протоколе считается регистрация 15–20 CD34⁺-клеток и более в 1 мкл. Подобное значение достигалось на 2–5-й (в среднем 3,5) дни мобилизации. Но зачастую такого уровня стволовых клеток достигнуть не удастся даже при условии эскалации дозы Г-КСФ, поэтому коллегиально в нашем Центре может быть принято решение о проведении афереза ГСК и у таких пациентов. Также в день афереза важно учитывать целевые лабораторные гематологические показатели: уровень гемоглобина (более 90 г/л) и уровень тромбоцитов (50×10^9 /л и более). Учитывая частые эпизоды развития гиперкоагуляции на процедуре сбора ГСК, необходим мониторинг показателей коагулограммы на весь период мобилизации и афе-

реза. У всех 30 детей, включенных в исследование, дважды проводился контроль следующих показателей системы гемостаза: фибриногена (целевые значения — 5,5–10,6 мкмоль/л), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) (22–34 с), D-димера (125–325 нг/мл). В день предполагаемого афереза выполняли установку центрального венозного катетера (ЦВК). Постановка ЦВК осуществлялась под ультразвуковым контролем. Детям с массой тела менее 15 кг в нашем Центре при условии наличия подключичного доступа устанавливается бедренный катетер «Цертофикс» 16G (производства компании Б. Браун, Германия). Если же центрального доступа у ребенка не было, то проводилась установка подключичного одноканального катетера «Цертофикс» 18G или 18/20G и бедренного ЦВК «Цертофикс» 16G, который удалялся после процедуры сбора ГСК. На момент проведения афереза ГСК никто из пациентов не получал инфузионную терапию.

Аферезы ГСК детям с массой тела менее 15 кг проводились в отделении реанимации и интенсивной терапии для обеспечения мониторинга основных показателей жизнедеятельности пациентов и незамедлительной их коррекции при необходимости. Все сборы проходили в присутствии родителей больных, что обеспечивало психологический комфорт. Перед каждой процедурой было получено информированное согласие законного представителя ребенка на проведение афереза ГСК.

Процедура сбора гемопоэтических стволовых клеток

Перед аферезом ГСК проводилась заправка контура системы донорской эритроцитной взвесью с предварительной биологической пробой накануне сбора в объеме 50 мл эритроцитной взвеси в течение 30 мин. Процедура сбора ГСК проводилась на клеточном сепараторе типа «Спектра Оптима» (Terumo BCT Inc, США). Использовались программы (в зависимости от выбранной сет-системы) «Сбор мононуклеаров» или «Непрерывный сбор мононуклеаров». Последний вариант выбирался при необходимости проведения афереза с большим объемом экстракорпорального контура сепаратора, что составляет порядка 300 мл. Для обеспечения оптимального афереза ГСК автоматические программы сбора учитывают пол, рост, вес, ОЦК, а также лабораторные показатели (гематокрит, количество лейкоцитов и тромбоцитов в день афереза). Успешность процедуры ГСК определялась достижением целевой дозы CD34⁺-клеток — 5×10^6 /кг [4]. Средним значением CD34⁺ у пациентов исследуемой группы было $13,9 \times 10^6$ /кг, что говорит о качественном сборе ГСК.

Стартовый параметр соотношения крови к АСД-А пациента составлял 12:1, но при гиперкоагуляции данные показатели корректировались в сторону 10:1 и 8:1. При явлениях гиперкоагуляции выполнялось усиление подачи антикоагулянтов в систему сбора.

Лабораторные исследования

Для определения количества $CD34^+$ -клеток в ПК в период мобилизации и образцах лейкоконцентрата используется протокол ISHAGE (International Society of Hemotherapy and Graft Engineering) [5]. Результат представлялся как в процентном, так и в абсолютном значении. Количество ГСК определялось по экспрессии мембранных маркеров $CD34$ и $CD45$ в реакции прямой иммунофлуоресценции.

Во время анализа на проточном цитофлуориметре мы сталкивались с различными вариантами сбора. Нами фиксировались как сборы с достаточным (рис. 2), так и с малым (рис. 3) количеством ГСК. Данные оценивались в рамках анализа популяции ГСК $CD34$ PE-A. Также при проведении исследования необходимо учитывать тот факт, что часть ГСК отрицательна по $CD45$, результаты контролировали по уровню ядросодержащих клеток с использованием нуклеотропного красителя Syto 16 [6].

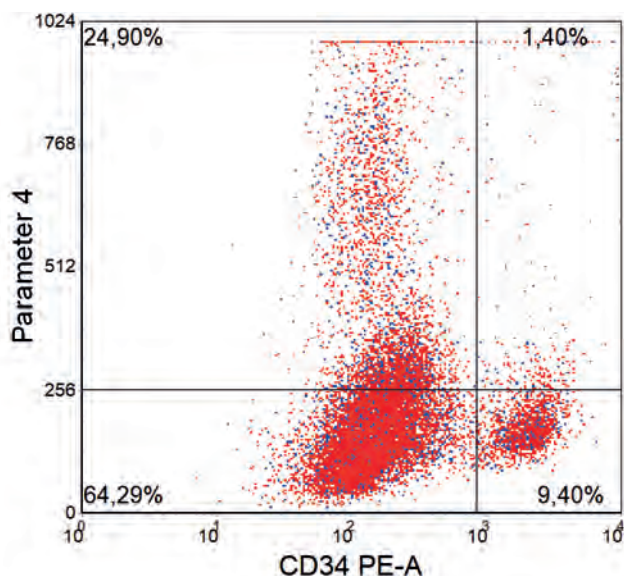


Рис. 2. Популяция клеток $CD34^+$ в продукте афереза при качественном сборе ГСК: $CD34$ (%) = 9,4 %, $CD34$ (абс.) = 331,1 кл/мкл

Fig. 2. Population of $CD34^+$ cells in the apheresis product during qualitative collection of HSC: $CD34$ (%) = 9,4 %, $CD34$ (abs.) = 331.1 cell/mkl

Статистический анализ

В целях статистического анализа пациенты, включенные в исследование, разделялись в группы по полу, весу и возрасту. С учетом медианы веса нами была выделена группа детей с массой тела до 12 кг и более 12 кг. Анализировались 3 возрастные группы — до 12 месяцев, от 12 до 24 месяцев, старше 24 месяцев.

Анализ проводился на программном обеспечении SPSS Statistics 23.0 с применением методов описательной статистики, непараметрических критериев. Применялись методы Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса.

Всем пациентам процедура афереза ГСК проводилась при условии наличия в ПК уровня тромбоцитов более $50 \times 10^9/\text{л}$, у 6 детей предварительно перед процедурой проводились заместительные трансфузии тромбоцитарного концентрата.

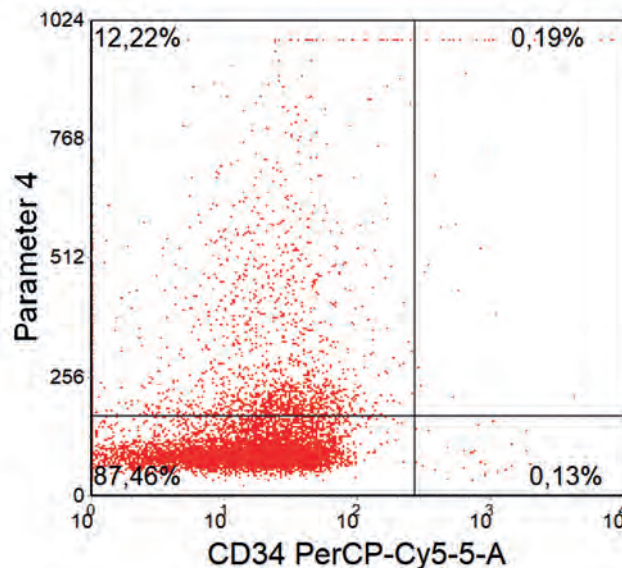


Рис. 3. Популяция клеток $CD34^+$ в продукте при неудачной мобилизации и аферезе ГСК: $CD34$ (%) = 0,13 %, $CD34$ (абс.) = 14,5 кл/мкл

Fig. 3. Population of $CD34^+$ cells in the apheresis product from failed HSC: $CD34$ (%) = 0.13 %, $CD34$ (abs.) = 14.5 cell/mkl

Результаты

В рамках оценки результатов исследования проанализированы как факторы, предшествующие аферезу, так и факторы, связанные с аферезом ГСК. Одним из факторов, предшествующих аферезу, выбрано количество проведенных курсов ПХТ. Так, все 30 пациентов получили более 2 курсов ПХТ, а медиана количества дней от начала последнего курса ХТ до начала мобилизации составила 10 (8–16). Двум больным понадобился повторный аферез ГСК. Результаты мобилизации представлены в табл. 2, а характеристики проведенных аферезов — в табл. 3. В среднем было обработано 2,7 ОЦК с медианой продолжительности афереза 259 мин.

Таблица 2. Результаты мобилизации ГСК у пациентов, включенных в исследование

Table 2. Results of HSC mobilization in patients included in the study

Критерий Significance	Медиана Median
Число лейкоцитов в ПК в день афереза, $\times 10^9$ Count of leukocytes in peripheral blood on the day of apheresis, $\times 10^9$	16,8 (0,52–38,9)
$CD34^+$ в ПК в день афереза, % Count of $CD34^+$ in peripheral blood on the day of apheresis, %	1,08 (0,03–8,46)
$CD34^+$ в ПК в день афереза, абс. Absolute count of $CD34^+$ in peripheral blood on the day of apheresis	150 (0,5–862,9)

Таблица 3. Характеристика проведенных аферезов

Table 3. Characteristics of the performed apheresis

Критерий Significance	Медиана Median
Обработано ОЦК, л Processed volume of circulating blood, L	2,7 (1,8–3,9)
Продолжительность афереза, мин Apheresis duration, min	259 (160–415)
Абсолютное количество нуклеаров, $\times 10^9$ Absolute amount of total nucleon cells, $\times 10^9$	13,8 (2,2–25,6)
CD34 ⁺ в продукте афереза, % Count of CD34 ⁺ in apheresis product, %	1,5 (0,13–5,75)
Абсолютное количество лейкоцитов в продукте афереза, $\times 10^9$ Absolute count of WBC in apheresis product, $\times 10^9$	129,1 (45,1–241,4)

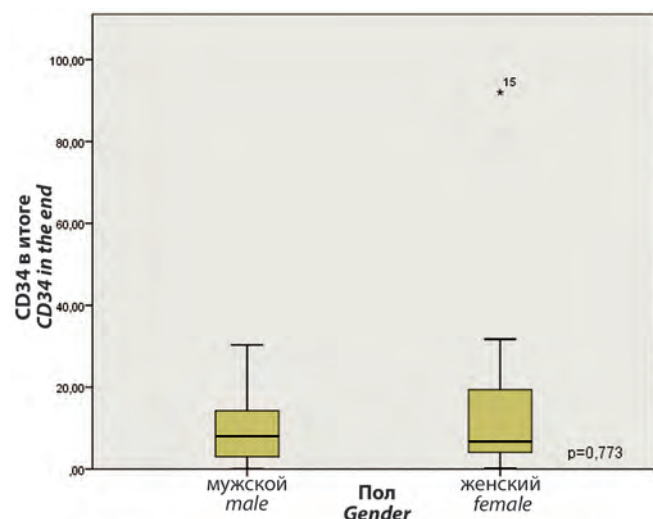


Рис. 4. Зависимость количества CD34 в итоговом продукте (в абсолютных значениях) от пола ребенка

Fig. 4. Dependence the absolute count of CD34 in the final product on the gender of the child

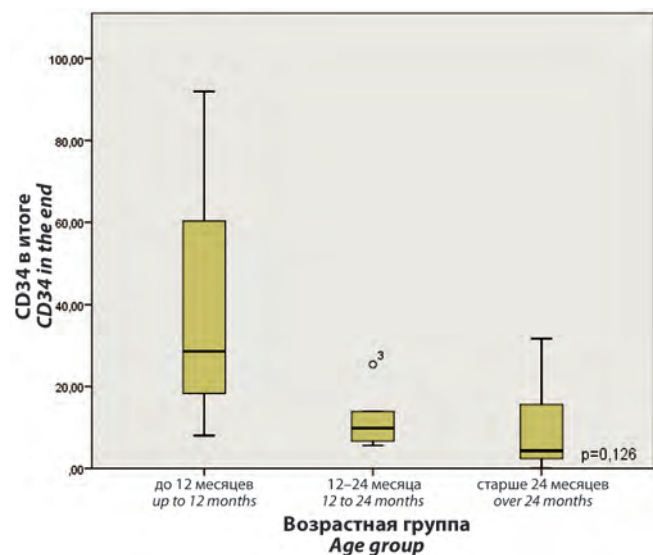


Рис. 5. Зависимость количества CD34 в итоговом продукте (в абсолютных значениях) от возраста ребенка

Fig. 5. Dependence the absolute count of CD34 in the final product on the age of the child

Различия в сборе в зависимости от характеристик пациентов

При проведении статистического анализа в зависимости от указанных выше характеристик пациентов и количества CD34 в итоговом продукте (в абсолютных значениях) не было выявлено статистически значимого различия в зависимости от пола ($p = 0,773$) (рис. 4), возраста ($p = 0,126$) (рис. 5) и массы тела ($p = 0,275$) (рис. 6).

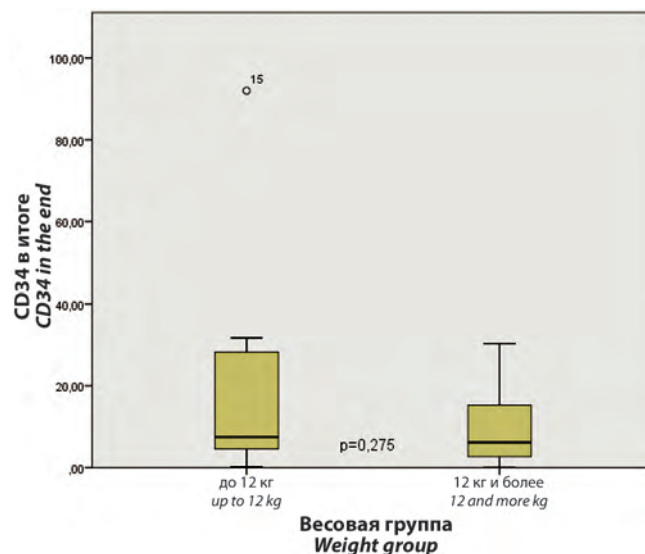


Рис. 6. Зависимость количества CD34 в итоговом продукте (в абсолютных значениях) от веса ребенка

Fig. 6. Dependence the absolute count of CD34 in the final product on the weight age of the child

При анализе различий в группах пациентов с массой тела до 12 кг и более 12 кг определено статистически значимое различие в объеме обработанного ОЦК (рис. 7). Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациента весом более 12 кг процедура длится дольше и требует большего объема обработки ОЦК.

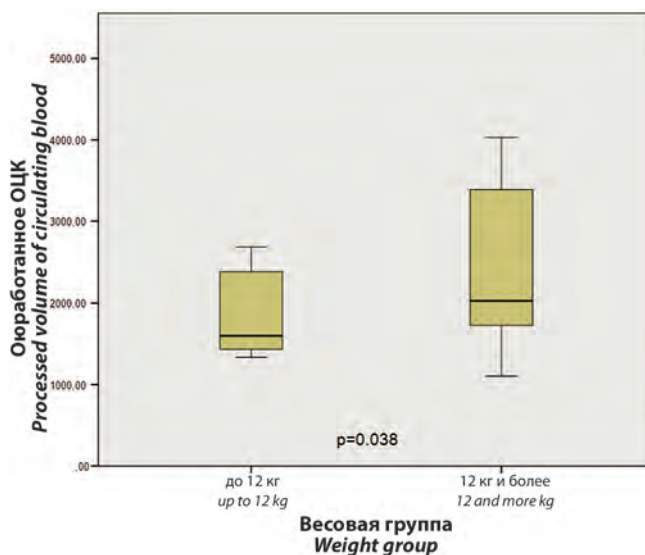


Рис. 7. Различия в объеме обработанного ОЦК (в мл) в 2 группах пациентов – с массой тела до 12 кг и более 12 кг

Fig. 7. Difference of the processed volume of circulating blood in two groups of patients – weighing up to 12 kg and more than 12 kg

Для пациентов с меньшей массой тела процедура является не менее безопасной, чем для детей с большим весом.

Осложнения

На фоне мобилизации ГСК ни у одного из пациентов не было отмечено повышения температуры тела до фебрильных значений.

У 2 из 30 больных зафиксирована потеря ЦВК в процессе проведения процедуры, что потребовало остановки сеанса афереза и повторной организации сосудистого доступа в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии. У 1 из 30 пациентов уровень тромбоцитов опустился ниже $20 \times 10^9/\text{л}$, что потребовало проведения заместительной трансфузии тромбоцитарного концентрата в день афереза, но до начала процедуры ГСК. Цитратных реакций в виде судорожных подергиваний различных групп мышц, тремора, нарушения ритма дыхания, снижения артериального давления, сердечной недостаточности, брадикардии ни у одного из детей отмечено не было. Профилактики в виде введения 10 % раствора глюконата кальция (10 мл) не проводилось.

Эпизодов кровотечений при постановке ЦВК или его удалении, а также кровотечения в ходе процедуры не было отмечено ни у одного из детей, включенных в данное клиническое наблюдение.

Обсуждение

Проведение аферезов ГСК у детей раннего возраста с массой тела менее 15 кг связано с определенными рисками. Наиболее опасные из них — гемодинамические осложнения. В рамках нашего анализа показано, что их зафиксировано не было. Одним из факторов достижения безопасности в нашей работе явилась оценка рисков перед процедурой сбора ГСК, участие мультидисциплинарной команды и применение клеточного сепаратора «Спектра Оптима», который обеспечивает безопасную скорость подачи антикоагулянта ACD-A, что минимизирует риски цитратной реакции [6].

Большое внимание в подготовке к аферезу нами уделялось мобилизации ГСК для того, чтобы уменьшить время проведения афереза и обеспечить достаточный объем трансплантата за одну процедуру. При подготовке протокола мы рассматривали различные известные варианты мобилизации ГСК (только Г-КСФ, ПХТ и Г-КСФ, Г-КСФ и плериксафор),

в исследовании все пациенты поступали для проведения афереза ГСК после ПХТ, что показывает соответствие нашего подхода международной практике [7, 8]. Однако применение плериксафора в нашем исследовании не потребовалось. Роль данного препарата у детей раннего возраста и с массой тела до 15 кг требует дальнейшего изучения.

В ходе процедуры афереза и после нее мы не сталкивались с эпизодами гиповолемии и/или гипотензии, что говорит о безопасности процедуры [9]. Данные по возврату крови (18 из 30 пациентов возврат проведен только кровью, без подключения физиологического раствора) свидетельствуют о ее безопасности, что соответствует литературным данным [9, 10]. В нашем исследовании было показано, что даже у больных раннего возраста и с весом менее 12 кг удается достигать высоких параметров безопасности, таких как стабильная гемодинамика, стабильный уровень сатурации, адекватные режимы распределения антикоагулянта и контроль за развитием цитратных реакций. Результаты не отличались в сравнении с показателями группы пациентов с массой тела более 12 кг.

Наше исследование показало возможность сбора ГСК у детей раннего возраста и весом до 15 кг на сепараторе «Спектра Оптима» с применением программы сбора моноклеаров, что соответствует ведущему мировому опыту [10]. Однако требует решения вопрос относительно безопасности применения антикоагулянтов в детской практике и определения режимов их подачи. В нашем исследовании осложнений, связанных применением антикоагулянтов, выявлено не было. Однако, по литературным данным, эта проблема характерна для детской популяции и требует дальнейшего изучения [11]. Для пациентов раннего возраста и с массой тела менее 15 кг мы применяли 2 описанные выше программы сбора моноклеаров, позволившие профилировать гиповолемические осложнения, что соответствует международным рекомендациям [11, 12].

Заключение

Выполнение аферезов у детей с весом до 15 кг и раннего возраста является безопасной и эффективной процедурой при участии мультидисциплинарной команды. Предложенный нами алгоритм афереза позволяет осуществить качественный сбор CD34⁺-клеток для последующего проведения ауто-ТГСК.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Truong T.H., Prokopishyn N.L., Luu H., Guilcher G.M.T., Lewis V.A. Predictive factors for successful peripheral blood stem cell mobilization and collection in children. *J Clin Apher.* 2019;34(5):598–606. doi: 10.1002/jca.21738.
2. Ahmetovic-Karic C., Catovic-Baralija E., Sofo-Hafizovic A. Characteristics of autologous peripheral blood stem cells collection over a one-year period. *Med Glas (Zenica).* 2020;17(2):290–6. doi: 10.17392/1171-20.
3. Takaue Y., Kawano Y., Abe T., Okamoto Y., Suzue T., Shimizu T., Sato J., Makimoto A., Nakagawa R. et al. Collection and transplantation of peripheral blood stem cells in very small children weighing 20 kg or less. *Blood.* 1995;86(1):372–80. PMID: 7795246.
4. Barrett D., Fish J.D., Grupp S.A. Autologous and allogeneic cellular therapies for high-risk pediatric solid tumors. *Pediatr Clin North Am.* 2010;57(1):47–66. doi: 10.1016/j.pcl.2010.01.001.
5. Sutherland D.R., Anderson L., Keeney M., Nayar R., Chin-Yee I. The ISHAGE guide- lines for CD34⁺ cell determination by flow cytometry. *International Society of Hemotherapy and Graft Engineering. J Hematother.* 1996;5(3):213–26. doi: 10.1089/scd.1.1996.5.213.
6. Гривцова Л.Ю., Тупицын Н.Н. Модифицированный метод оценки количества клеток-предшественников в кроветворной ткани. *Медицинский алфавит.* 2016;3(30):50–3. [Grivtsova L.Yu., Tupitsyn N.N. A modified method for assessing the number of progenitor cells in hematopoietic tissue. *Meditinskiy alfavit.* = *Medical Alphabet.* 2016;3(30):50–3. (In Russ.)].
7. Modak S., Cheung I.Y., Kushner B.H., Kramer K., Reich L., Cheung N.K. Plerixafor plus granulocyte colony stimulating factor for autologous hematopoietic stem cell mobilization in patients with metastatic neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2012;58(3):469–71. doi: https://doi.org/10.1002/pbc.23132.
8. Koc O.N., Gerson S.L., Cooper B.W., Laughlin M., Meyerson H., Kutteh L., Fox R.M., Szekely E.M., Tainer N., Lazarus H.M. Randomized cross-over trial of progenitor-cell mobilization: high-dose cyclophosphamide plus granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) versus granulocytemacrophage colony-stimulating factor plus G-CSF. *J Clin Oncol.* 2000;18(9):1824–30. doi: 10.1200/JCO.2000.18.9.1824.
9. Курникова Е.Е., Хамин И.Г., Щукин В.В., Шаманская Т.В., Фадеева М.С., Першин Д.Е., Трахтман П.Е. Аферез гемопоэтических стволовых клеток у детей с экстремально низкой массой тела, как это делаем мы: опыт НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2020;19(2):152–9. doi: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-152-159. [Kurnikova E.E., Khamin I.G., Shchukin V.V., Shamanskaya T.V., Fadeeva M.S., Pershin D.E., Trakhtman P.E. Apheresis of peripheral blood stem cells in children with very low body weight: a single centre experience. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii.* = *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology.* 2020;19(2):152–9. (In Russ.)].
10. Brust P., Schubert C., Blohm M., Winkler B. Successful Stem Cell Apheresis Using Spectra Optia in a 6 kg Child with Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2020;42(7):e692–5. doi: 10.1097/MPH.0000000000001745.
11. Cherqaoui B., Rouel N., Auvrignon A., Defachelles A.S., Kanold J., Merlin E. Peripheral blood stem cell collection in low-weight children: retrospective comparison of two apheresis devices. *Transfusion.* 2014;54(5):1371–8. doi: 10.1111/trf.12448.
12. Sörensen J., Jarisch A., Smorta C., Köhl U., Bader P., Seifried E., Böning H. Pediatric apheresis with a novel apheresis device with electronic interface control. *Transfusion.* 2013;53(4):761–5. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03823.x.

Статья поступила в редакцию: 12.11.2021. Принята в печать: 26.03.2022.

Article was received by the editorial staff: 12.11.2021. Accepted for publication: 26.03.2022.