

<https://doi.org/10.21682/2311-1267-2020-7-2-78-85>

Оптимизация методов сбора периферических гемопоэтических стволовых клеток у детей с онкологическими заболеваниями: обзор литературы

Н.Г. Степанян, Н.В. Сидорова, М.В. Рубанская, Н.Н. Тупицын,
Н.В. Матинян, К.И. Киргизов, С.Р. Варфоломеева

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

Контактные данные: Нара Гарегиновна Степанян nara19922@yandex.ru

Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) является стандартом лечения онкологических, гематологических, а также некоторых иммунных заболеваний, обеспечивая восстановление показателей крови после высокодозной химиотерапии. У детей успех проведения мобилизации и обеспечение сбора гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) особенно важен. Схемы мобилизации у детей решаются в индивидуальном порядке, что требует разработки и внедрения в практику рекомендаций по повышению эффективности мобилизации и сбора ГСК. Схемы мобилизации включают применение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора в виде монотерапии или в сочетании с антагонистами CXCR4. Эти схемы оказываются неэффективными у некоторых детей, что требует повторной мобилизации или отказа от трансплантации, что негативно влияет на прогноз. При подготовке пациента к сбору ГСК необходимо учитывать всю предшествующую терапию, возраст пациента, массо-ростовые показатели, общее соматическое состояние. Заготовка необходимого количества ГСК позволит выполнить высокодозную терапию с последующей ауто-ТГСК и тем самым повысить эффективность лечения. Необходима оптимизация протокола мобилизации ГСК с большим уклоном на педиатрических пациентов, в котором будут четко прописаны критерии проведения мобилизации, даны показания к данной процедуре и определены критерии технического сбора, что позволит добиться получения оптимального количества клеток CD34⁺, что обеспечит успех проводимого лечения.

Ключевые слова: дети, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, аферез гемопоэтических стволовых клеток, плексифор

Для цитирования: Степанян Н.Г., Сидорова Н.В., Рубанская М.В., Тупицын Н.Н., Матинян Н.В., Киргизов К.И., Варфоломеева С.Р. Оптимизация методов сбора периферических гемопоэтических стволовых клеток у детей с онкологическими заболеваниями: обзор литературы. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2020;7(2):78–85.

Optimization of methods for collecting peripheral hematopoietic stem cells in children with cancer: literature review

N.G. Stepanyan, N.V. Sidorova, M.V. Rubanskaya, N.N. Tupitsyn, N.V. Matinyan, K.I. Kirgizov, S.R. Varfolomeeva

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

Autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT) is a standard for the treatment of oncological, hematologic, and also some immune diseases, ensuring the restoration of blood counts after high-dose chemotherapy. In children, the success of mobilization and collection of hematopoietic stem cells (HSCs) is especially important. Mobilization schemes for children are decided on an individual basis, which requires the development and implementation of recommendations for improving the efficiency of mobilization and collection of HSCs. Mobilization schemes include the use of granulocyte colony-stimulating factor in the form of monotherapy or in combination with CXCR4 antagonists. These schemes are ineffective in some children, which requires re-mobilization or rejection of transplantation, which negatively affects the prognosis. When preparing a patient for HSCs collection, it is necessary to take into account all previous therapy, the patient's age, weight and height indicators, and general somatic state. Harvesting the required amount of HSCs will allow for high-dose therapy followed by auto-HSCT, and thereby increase the effectiveness of treatment. It is necessary to optimize the protocol for mobilization of HSCs with a large bias for pediatric patients, which will clearly define the criteria for mobilization, give indications for this procedure and determine the criteria for technical collection, which will allow to obtain the optimal number of CD34⁺ cells, which will ensure the success of the treatment.

Key words: children, hematopoietic stem cell transplantation, granulocyte colony stimulating factor, hematopoietic stem cell apheresis, plerixafor

For citation: Stepanyan N.G., Sidorova N.V., Rubanskaya M.V., Tupitsyn N.N., Matinyan N.V., Kirgizov K.I., Varfolomeeva S.R. Optimization of methods for collecting peripheral hematopoietic stem cells in children with cancer: literature review. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2020;7(2):78–85.

Информация об авторах

Н.Г. Степанян: врач-трансфузиолог отдела афереза отделения детской трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: nara19922@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0001-7939-5129>

Н.В. Сидорова: заведующая отделением детской трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: valerevna25@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0003-3797-5808>

М.В. Рубанская: к.м.н., старший научный сотрудник 2-го хирургического отделения НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: marishvecova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1016-539X>
 Н.Н. Тупицын: д.м.н., профессор, заведующий лабораторией иммунологии гемопоэза НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: nntca@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>
 Н.В. Матинян: д.м.н., профессор, заведующая отделением анестезиологии-реанимации НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: n9031990633@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0001-7805-5616>
 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, заместитель директора по научной и лечебной работе – директор НИИ детской онкологии и гематологии аппарата управления НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, исполнительный директор РОО НОДГО, e-mail: s.varfolomeeva@ronc.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6131-1783>

Information about the authors

N.G. Stepanyan: Transfusiologist Apheresis Department of the Department of Pediatric Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: nara19922@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0001-7939-5129>
N.V. Sidorova: Head of the Department of Pediatric Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: valerevna25@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0003-3797-5808>
M.V. Rubanskaya: Cand. of Sci. (Med.), Researcher and Pediatric Oncologist Department of Surgery No. 2 Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: marishvecova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1016-539X>
N.N. Tupitsyn: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head 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: nntca@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>
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>
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, Deputy Director for Research and Clinical Work – 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, Executive Director of Regional Public Organization National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists, e-mail: s.varfolomeeva@ronc.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6131-1783>

Вклад авторов

Н.Г. Степанян: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, разработка дизайна статьи, написание текста статьи, подготовка списка литературы
 Н.В. Сидорова, М.В. Рубанская: анализ полученных данных, изучение разных групп пациентов
 Н.Н. Тупицын, Н.В. Матинян: предоставление лабораторных данных, предоставление данных о технических особенностях процедуры
 К.И. Киргизов: обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна статьи, научное редактирование статьи
 С.Р. Варфоломеева: руководитель проекта, разработка дизайна статьи, научное редактирование статьи

Authors' contributions

N.G. Stepanyan: review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained, design of the article, writing the text of the article, preparation of a list of references
N.V. Sidorova; M.V. Rubanskaya: analysis of the data obtained, analysis of different groups of patients
N.N. Tupitsyn, N.V. Matinyan: provision of laboratory data, provision of data on the technical features of the procedure
K.I. Kirgizov: review of publications on the topic of the article, design of the article, scientific edition of the article
S.R. Varfolomeeva: project leader, design of the article, 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

Система кроветворения человека находится в постоянном обновлении, ежеминутно производя более 300 млн клеток. Важную роль в гемопоэзе имеют стволовые кроветворные клетки, обладающие полипотентностью и способные дифференцировать в 11 кроветворных линиях, что обеспечивает организм должным числом элементов крови [1]. Гемопоэз как процесс формирования элементов крови происходит под контролем гемопоэтических факторов роста: гемоцитокинов или гематогормонов, которые регулируют пролиферацию ранних предшественников, дифференцировку коммитированных и функционально активных зрелых клеток крови [2].

В онкологии в целях стимуляции гемопоэза наиболее широкое применение нашел гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ). В организме этот фактор вырабатывается клетками стромы

костного мозга (КМ), эндотелиоцитами, макрофагами и эпителиальными клетками тимуса [3]. Г-КСФ ускоряет созревание и дифференцировку предшественников нейтрофилов и миграцию их в периферическую кровь из КМ, а также усиливает функциональную активность и является основным компонентом для осуществления мобилизации CD34⁺-клеток с целью заготовки трансплантата, который представляет собой концентрат гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для последующей трансплантации [4].

Аутологичная трансплантация ГСК (ауто-ТГСК) является стандартом лечения пациентов с рядом онкологических, гематологических и некоторых других заболеваний, например, аутоиммунных расстройств. Реинфузия ГСК в рамках ауто-ТГСК обеспечивает быстрое восстановление гемопоэза после высокодозной полихимиотерапии (ПХТ). Необходимым условием проведения ауто-ТГСК является

предварительная заготовка достаточного объема аутологичных ГСК, что требует адекватной предварительной мобилизации [5]. До настоящего времени схема проведения мобилизации ГСК осуществляется по стандарту с учетом индивидуальных особенностей и потребностей пациента.

Современные режимы мобилизации включают применение Г-КСФ как в виде монотерапии, так и в комбинации с ПХТ. При использовании Г-КСФ в монорежиме мобилизация переносится хорошо, но ограничивается низким числом полученных CD34⁺-клеток. При назначении Г-КСФ после ПХТ и цитостатических агентов (циклофосфамид), число CD34⁺-клеток увеличивается в периферический кровь в 2–5 раз [6].

Наибольший опыт в мире по мобилизации ГСК накоплен у взрослых больных. В данных работах показано, что у 5–30 % пациентов с подтвержденной неходжкинской лимфомой, болезнью Ходжкина и множественной миеломой [7] существующие схемы мобилизации ГСК оказываются неэффективными, что требует повторной процедуры мобилизации и/или сдвига сроков трансплантации, что сильно влияет на результат терапии. Подобные проблемы с мобилизацией ГСК зафиксированы и в детской популяции [5]. Для подбора оптимального режима необходимо понимать основной принцип мобилизации и факторы, которые могут негативно повлиять на мобилизацию ГСК [8, 9].

Целью данной работы является демонстрация современной ситуации и определение рекомендаций по повышению эффективности мобилизации ГСК у детей с различными видами злокачественных новообразований и оптимизации модели их сбора в формате индивидуализированного протокола.

Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток

Микроокружение ГСК представляет собой систему, состоящую из стромы и межклеточного матрикса, основная роль которых заключается в осуществлении регулирующих влияний ГСК. В популяцию стромальных клеток входят фибробласты, эндотелиальные, жировые клетки и группа моноцитов-макрофагов. ГСК находятся внутри костномозговых ниш и надежно там удерживаются адгезивными взаимодействиями с клетками стромы. Доказано существование 2 основных костномозговых ниш – васкулярной и эндостальной [6].

В сосудистой нише ГСК находятся в непосредственной близости с периваскулярными мезенхимальными стволовыми клетками (МСК) и эндотелиальными клетками синусоидов сосудов [5–7]. В эндостальной нише ГСК контактируют с остеобластами, выстилающими поверхность кости, и МСК. Результаты исследований свидетельствуют о том, что пролиферирующие ГСК, поддерживающие нормальный гемопоэз, локализованы преимущественно в периваскулярных нишах. При этом покоящиеся стволовые клетки, обеспечивающие резерв, находятся в высоко кровоснабжающихся эндотелиальных нишах [10].

Периваскулярные МСК, синусоидальные эндотелиальные клетки и остеобласты экспрессируют молекулы адгезии, такие как VCAM-1/CD106, и трансмембранный фактор стволовых клеток (Kit-лиганд). VCAM-1/CD106 связывается с рецептором α4β1 на ГСК, а Kit-лиганд – с его рецептором c-Kit (CD117), который также экспрессируется на ГСК [8, 9].

Важно также взаимодействие между хемотаксическим фактором стромальных клеток 1 (SDF-1/CXCL12), секретлируемым клетками гемопоэтической ниши, и его рецептором CXCR4 на ГСК.

Важными участниками формирования гемопоэтических ниш являются фагоцитирующие макрофаги CD68⁺CD169⁺, находящиеся рядом с МСК и остеобластами. Ретикулярные клетки секретируют гемопоэтические цитокины и CXCL12, одной из основных функций которых является поддержание функциональной целостности ниш и обеспечение через CXCL12 связывания с рецептором CXCR4. При уменьшении количества макрофагов в КМ происходит снижение интенсивности экспрессии VCAM-1, SDF-1 и SCF, что приводит к нарушению адгезивных взаимодействий и мобилизации гемопоэтических предшественников в кровь [8, 9].

Циркадный ритм и его роль в мобилизации гемопоэтических стволовых клеток

Все виды деятельности живых организмов связаны циклом бодрствования и сна. Имеются данные об условном делении суток на 3 периода: 1-й – с 5 ч утра и до 13 ч дня, когда преобладает влияние вегетативной нервной системы. В этот период усиливается обмен веществ, увеличивается скорость процессов, происходящих в организме. В период с 13 до 21 ч снижается активность симпатической части, а в ночной период повышается тонус парасимпатической нервной системы и значительно снижается обмен веществ [11].

Под влиянием симпатических адренергических нервов происходят ритмические колебания в продукции SDF-1 клетками гемопоэтических ниш и экспрессии CXCR4 самими ГСК. В утреннее время наблюдаются минимальные значения экспрессии SDF-1 костномозговыми клетками и CXCR4 ГСК. Именно в это время определялись пиковые значения циркулирующих ГСК [11, 12].

Виды мобилизации гемопоэтических стволовых клеток

В настоящее время мобилизация клеток CD34⁺ осуществляется по 3 основным направлениям:

1. Включает в себя применение только ростовых факторов.
2. Миелосупрессивная химиотерапия (ХТ) с дальнейшим применением Г-КСФ.
3. Использование Г-КСФ совместно с антагонистами CXCR4.

При мобилизации только ростовым фактором серьезных побочных эффектов обычно не развивается, однако не всегда удается заготовить достаточное

количество CD34⁺-клеток для успешного восстановления кроветворения (данные получены на основе исследований взрослых пациентов с болезнью Ходжкина и неходжкинской лимфомой) [7].

Наиболее часто недостаточная эффективность мобилизации наблюдается у больных, получивших большое количество курсов ХТ.

Использование циклофосфида в качестве компонента мобилизации приводит к 2–5-кратному повышению эффективности мобилизации и уменьшению количества процедур афереза, необходимых для заготовки клеток CD34⁺ [13–15]. Но такой способ мобилизации сопряжен с большим количеством инфекционных осложнений, что может плохо сказаться на терапии пациентов [9]. В итоге госпитализация становится более длительной, что требует дополнительного назначения антибактериальной терапии и нередко дополнительных трансфузий компонентов крови [16–18].

Критерии, влияющие на успех мобилизации и сбора ГСК у детей, недостаточно понятны. Была изучена группа из 218 сборов ГСК, из которых 199 проведены у детей. Из них 35 человек были потенциальными аллогенными и 164 – ауто-донорами. Удачным считался сбор при числе CD34⁺ $\geq 2 \times 10^6$ /кг массы тела реципиента на 1 трансплантацию, что было зафиксировано у 188 (94 %) из 199 доноров. Хорошим сбором ГСК считается количество CD34⁺ $\geq 5 \times 10^6$ /кг массы тела реципиента на 1 трансплантацию, что было отмечено у 147 (74 %) доноров. Неудачные сборы были зафиксированы у 11 (6 %) доноров, данная группа была в значительной степени сформирована из пациентов с опухолями головного мозга и в день афереза в периферической крови у этих больных количество CD34⁺ было $< 20 \times 10^6$ кл/л. Принято считать благоприятным фактором возраст донора старше 10 лет и количество CD34⁺ в день афереза $\geq 20 \times 10^6$ кл/л. Факторы, связанные с недостаточным количеством клеток в периферической крови, можно выявить до процедуры афереза, что требует лабораторного контроля показателей крови пациента и подбора для него максимального эффективного режима мобилизации с включением цитостатических агентов или антагонистов CXCR4 [19].

Однако несмотря на это, у ряда больных результаты мобилизации оказываются неудовлетворительными, что требует разработки индивидуальных режимов для каждого пациента.

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

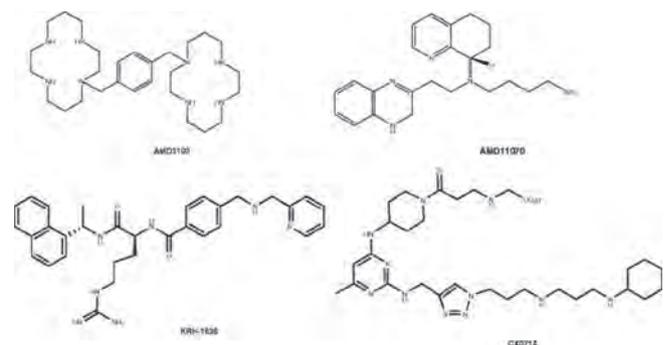
В организме Г-КСФ вырабатывается клетками стромы КМ, эндотелиоцитами, макрофагами, эпителиальными клетками тимуса. Г-КСФ обеспечивает созревание и дифференцировку предшественников нейтрофилов, выход зрелых нейтрофилов в периферическую кровь из КМ, а также усиливает функциональную активность зрелых нейтрофилов. Рецептор Г-КСФ (CD114) состоит из одной полипептидной цепи, внеклеточная часть которой отвечает за специ-

фическое связывание с лигандом, а внутриклеточная – за формирование и передачу сигналов для обеспечения пролиферации и дифференцировки клеток. После взаимодействия с лигандом рецептора происходит фосфорилирование тирозиновых оснований внутриклеточной части рецептора с помощью тирозинкиназы, что обеспечивает дальнейшую передачу сигнала внутрь клетки [11, 12].

Эффективность применения антагонистов CXCR4

Воздействие между SDF-1 и его рецептором CXCR4 является решающим в удержании ГСК в КМ, блокада CXCR4 с помощью антагонистов или применение стабильных аналогов SDF-1 приводят к эффективной мобилизации стволовых клеток. В настоящее время данным антагонистом CXCR4 является плериксафор – низкомолекулярный селективный и обратимый антагонист хемокинового рецептора CXCR4, который нарушает связь с SDF-1, тем самым позволяя ГСК выйти из костномозговых ниш в циркулирующую кровь. Основой плериксафора является молекула AMD3100. Бицикл AMD3100 был разработан после молекулы JM1657, который был идентифицирован как примесь моноцикла, предназначенная для разработки нового соединения свинца для средств против вируса иммунодефицита человека. Между тем молекула AMD3100 послужила моделью для исследования новых агентов для мобилизации стволовых клеток, которые нацелены на рецептор CXCR4 и могут рассматриваться как потенциальные лекарственные препараты, такие как KRH-163694 и CX071495 (рисунок). Они могут быть полезны в качестве дополнительных агентов для мобилизации стволовых клеток [20]. В клинической практике плериксафор обычно назначают в дозе 240 мкг/кг подкожно вечером накануне первого лейкофереза, поскольку пиковые значения клеток CD34⁺ наблюдаются через 10–14 ч после его введения [21, 22].

Плериксафор непосредственно связывается с CXCR4 и блокирует хемотаксическую передачу сигналов в клетках. Плериксафор также способствует высвобождению SDF-1 из остеобластов и эндотелиальных клеток в циркулирующую кровь. Происходит изменение градиента SDF-1 между костномозговой



Антагонист CXCR4: AMD3100 (плериксафор); AMD11070; KRH-1636; CX0714

CXCR4 antagonist: AMD3100 (plerixafor); AMD11070; KRH-1636; CX0714

стромой и кровью, что обеспечивает выход ГСК из КМ. В отличие от Г-КСФ плериксафор не оказывает влияния на остеобласты и эндостальные макрофаги. В связи с различными механизмами действия плериксафора и Г-КСФ при их сочетанном применении наблюдается усиление мобилизующего эффекта [23].

В исследовании II фазы плериксафор в сочетании с Г-КСФ быстро увеличивал содержание циркулирующих клеток CD34⁺ в крови. В исследовании у больных с неходжкинскими лимфомами удалось заготовить в 4,4 (диапазон – 1,1–54,4) раза больше клеток CD34⁺ при использовании схемы плериксафор + Г-КСФ по сравнению с Г-КСФ в монорежиме. Подобные результаты отмечены и у больных с множественной миеломой: повышение эффективности мобилизации в 3–4 (диапазон – 1,3–10) раза при применении плериксафора и Г-КСФ. У пациентов, у которых первая мобилизация с использованием одного Г-КСФ или Г-КСФ в сочетании с химиопрепаратами оказалась неэффективной, при введении плериксафора и Г-КСФ наблюдалось увеличение пиковых значений циркулирующих клеток CD34⁺ в 5–100 раз [24].

Пациенты с неходжкинскими лимфомами, у которых результаты мобилизации с использованием Г-КСФ в сочетании с плериксафором или плацебо были неудовлетворительными, включались в дополнительное исследование. Им была предложена повторная мобилизация ГСК с использованием плериксафора и Г-КСФ. Режим введения препаратов был прежним. В результате применения 2 препаратов CD34⁺-клетки были заготовлены у 33 (63 %) из 52 больных, у которых ранее в режиме мобилизации были Г-КСФ и плацебо, и у 4 (40 %) из 10 пациентов, которым ранее вводили Г-КСФ и плериксафор. Высокий процент успешных повторных мобилизаций, выполненных по схеме Г-КСФ и плериксафор, после неэффективной ранее мобилизации дает возможность рассматривать данную схему как весьма нужную в терапевтической практике [25, 26]. Опыт применения плериксафора у детей ограничен [27, 28]. Исследование MOZAIC является первым в мире, в котором рассматриваются дозы и сроки применения плериксафора у детей с онкологическими заболеваниями, и позволяет оценить эффективность и безопасность в педиатрической практике. На 1-м этапе исследования были проведены подкожные введения плериксафора детям, при этом не наблюдалось видимого дозозависимого эффекта плериксафора на совокупное увеличение клеток CD34⁺ в периферической крови, а эффективность и безопасность плериксафора в этом исследовании были аналогичны таковым, наблюдаемым у взрослых при всех 3 исследованных дозах: 160 мкг/кг – 240 мкг/кг – 320 мкг/кг. Поэтому рекомендуемая доза для взрослых 240 мкг/кг, вводимая за 8–12 ч до афереза, была также рекомендована в педиатрической практике [29]. При этом у 31 из 33 пациентов, которые ранее имели неудачу мобилизации с применением Г-КСФ в монорежиме, успешно мобилизовали клетки CD34⁺ в перифери-

ческую кровь после применения плериксафора, при этом у 27 больных были достигнуты цели получить 2×10^6 кл/л после одной процедуры афереза [29].

Методы улучшения результатов мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток

Для рационального использования Г-КСФ, а также плериксафора необходимо до начала мобилизации выделить группу пациентов, имеющих высокий риск неудачного сбора клеток CD34⁺.

Так, итальянские исследователи из группы GITIMO (Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo), основываясь на данных взрослых пациентов с болезнью Ходжкина и множественной миеломой, ретроспективно определили критерии доказанного риска потерпеть неудачу при мобилизации. Так, больные с множественной миеломой или неходжкинскими лимфомами, которым планировалось выполнение ауто-ТГСК, были отнесены к группе риска, если:

- выполнен адекватный протокол мобилизации (Г-КСФ в дозе ≥ 10 мкг/кг при использовании в монорежиме или ≥ 5 мкг/кг после ХТ) и показатели циркулирующих клеток CD34⁺ не достигали 20 000/мл на 4–6-й дни после начала применения Г-КСФ на фоне стабильного кроветворения или вплоть до 20-го дня после ХТ и применения Г-КСФ;

- заготовлено CD34⁺ $< 2 \times 10^6$ кл/кг не более чем за 3 процедуры афереза.

К группе возможного риска неудачи относятся пациенты, у которых имеется, по крайней мере, 1 большой критерий или 2 малых (таблица) [25].

Количество циркулирующих клеток CD34⁺ на фоне стабильного состояния кроветворения достоверно коррелирует с количеством клеток CD34⁺, которое можно заготовить с использованием стандартных режимов мобилизации. Эффективность мобилизации ГСК зависит от исходного содержания клеток CD34⁺ в крови и клеточности КМ в гистологическом препарате. Успешная мобилизация возмож-

Критерии риска неудачи мобилизации, адаптировано из [25]

Risk criteria for failure of mobilization, adapted from [25]

Большие критерии <i>Great criteria</i>	Малые критерии <i>Small criteria</i>
1. Неэффективная предыдущая мобилизация <i>Ineffective previous mobilization</i>	1. Продвинутая стадия (минимум 2 линии терапии) <i>Advanced stage (minimum 2 lines of therapy)</i>
2. Наличие в анамнезе основного заболевания, лучевой терапии с захватом КМ, печени, селезенки, тимуса <i>The presence in the history of the underlying disease, radiation therapy with the capture of BM, liver, spleen, thymus</i>	2. Рефрактерное течение основного заболевания <i>Refractory course of the underlying disease</i>
3. Выполнение на предыдущих этапах лечения курсов ХТ, содержащих флударабин, мелфалан <i>Performing at the previous stages of treatment courses of chemotherapy containing fludarabine, melphalan</i>	3. Массивное вовлечение КМ <i>Massive involvement of BM</i>
	4. Клеточность КМ < 30 % <i>BM cellularity < 30 %</i>
	5. Возраст старше 65 лет <i>Age over 65</i>

на, если до ее начала в крови определяется не менее 20 кл/мкл CD34⁺, а количество миелокариоцитов в трепанобиоптате составляет не менее 40 %. Основным критерием, позволяющим прогнозировать успешный сбор ГСК, является содержание клеток CD34⁺ в крови в день проведения афереза [30].

Особенности мобилизации гемопоэтических стволовых клеток в педиатрической практике

Мобилизацию периферических стволовых клеток у детей с солидными опухолями и гемобластомами после программной ХТ начинают отсрочено, в среднем на 14-й день от начала ХТ в фазе выхода пациентов из аплазии кроветворения [30]. Стартовой дозой Г-КСФ является дозировка 5 мкг/кг для детей весом до 10 кг, и средняя дозировка 7–10 мкг/кг для детей весом > 10 кг. На момент 1-го сеанса афереза пациенты в среднем получают до 5 курсов ХТ, что также сказывается на эффективности мобилизации [28]. Г-КСФ вводится подкожно ежедневно в одно и то же время в течение 5–7 дней, последнее введение выполняют непосредственно за 2 ч до афереза с оценкой эффективности мобилизации. Аферез периферических стволовых клеток проводят обычно на 4–6-й дни от начала мобилизации. В это время наблюдается значительное повышение количества лейкоцитов периферической крови (в 4–10 раз), сопровождающееся увеличением уровня клеток-предшественников различных линий гемопоэза (CD34⁺) [30]. Критерием адекватности дозы периферических стволовых клеток для ауто-ТГСК в педиатрической практике является количество мононуклеарных клеток, превышающее 4–8 × 10⁸/кг, или количество CD34⁺-клеток > 5–10 × 10⁸ [31].

Мобилизация в педиатрической практике

У большинства пациентов мобилизация ГСК начинается во время восстановления количества лейкоцитов после проведенного блока ХТ согласно протоколу терапии. Мобилизацию нужно начинать, когда число [32]:

- лейкоцитов периферической крови – 1 тыс/мкл;
- нейтрофилов – 0,35 тыс/мкл;
- тромбоцитов – 20 тыс/мкл.

Мобилизация проводится Г-КСФ в дозе 5–10 мкг/кг/сут, 4–7 дней; последнюю дозу вводят за 2–4 ч до начала процедуры лейкоцитафереза. Контроль числа CD34⁺ в периферической крови необходимо проводить на 3-й день от начала стимуляции Г-КСФ, последний контроль – в день афереза. При низком содержании CD34⁺ (< 10 кл/мкл) к 3-му дню дозу Г-КСФ необходимо увеличить на 10–20 мкг/кг/сут. Если к 4–5-му дням от начала мобилизации количество CD34⁺ в периферической крови < 15/мкл, но > 5/мкл, то за 10 ч до афереза вводится плериксафор. Минимальным достаточным для проведения афереза ГСК считается количество CD34⁺, равное 20 кл/мкл, лейкоцитов – 10 × 10⁹/мл и более [33, 34].

Технические особенности проведения аферезов гемопоэтических стволовых клеток у детей

Лейкаферезы выполняются с применением программы сбора мононуклеаров на различных сепараторах. Наиболее часто в России для детей используются сепараторы Spectra Optia. Аферез планируется на следующий день после достижения достаточного числа CD34⁺-клеток в периферической крови. Накануне афереза устанавливается центральный венозный катетер.

Для детей до 3 лет и/или с массой тела < 15 кг экстракорпоральный контур сепаратора клеток крови обязательно заполняется одной единицей донорской, облученной в дозе 25 Гр, лейкофильтрованной эритроцитной взвеси в целях профилактики гиповолемических осложнений [31].

Согласно литературным данным, для эффективного восстановления нейтрофильного ростка необходима доза CD34⁺-клеток > 1 × 10⁶/кг. В большинстве центров доза 2–2,5 × 10⁶/кг считается адекватной. Доза CD34⁺-клеток, равная 5–8 × 10⁶/кг, ускоряет сроки восстановления нейтрофилов и тромбоцитов, дальнейшая эскалация доз результаты не улучшает [9]. Для успешной ауто-ТГСК необходимо собрать 3 × 10⁸/кг нуклеарных клеток при условии стандартной мобилизации с использованием только Г-КСФ [35]. Достаточным количеством CD34⁺-клеток после мобилизации с плериксафором считалось 3 × 10⁶/кг. Если эффективность мобилизации была достаточной, и не возникало никаких технических или клинических препятствий, то для всех пациентов со злокачественными новообразованиями выполняется сбор клеток за 1 аферез [33].

Обсуждение

Периферические стволовые клетки крови играют главную роль для проведения ауто-ТГСК. Восстановление кроветворения имеет большое значение для сокращения инфекционных осложнений, снижения количества трансфузионных манипуляций, сокращения продолжительности госпитализации в стационаре. Назначение Г-КСФ нужно выполнять после курсов ХТ, когда будет зафиксировано восстановление кроветворения, что увеличит вероятность выхода требуемых доз CD34⁺-клеток [9, 28]. Увеличение дозы Г-КСФ и назначение плериксафора также улучшают результаты мобилизации [9, 26, 36]. Наиболее значимое влияние на абсолютное содержание CD34⁺-клеток в продукте афереза и на их полученную дозу оказывает количество циркулирующих в периферической крови CD34⁺-клеток накануне и в день афереза. Правильное определение необходимой продолжительности афереза, основанное на полученных лабораторных данных, позволяет достичь целевых значений сбора клеток за 1 аферез. Очень большое значение имеют возраст и вес пациента [4, 37]. Нужно подбирать оптимальный режим сбора с учетом всех технических особенностей сепаратора, для того чтобы процедура лейкоцитафереза была максимально безопасной [38].

Заключение

Как видно из представленного обзора, в педиатрической практике не сформировано четких индивидуализированных алгоритмов получения ГСК с учетом всех факторов риска, что обуславливает необходимость разработки индивидуализированных схем.

Понимание механизмов мобилизации ГСК обеспечило решение вопроса сбора стволовых клеток

у пациентов, которые являются «плохими мобилизаторами». Решающими моментами в получении оптимального количества ГСК являются ограниченное применение препаратов, оказывающих повреждающее воздействие на ГСК и стромальные элементы, определение оптимальных сроков проведения мобилизации, а также использование высокой степени синергизма плексиафора с ХТ + Г-КСФ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Владимирская Е.Б. Нормальное кроветворение и его регуляция. Клиническая онкогематология 2015;8(2):109–19. [Vladimirskaya E.B. Normal blood formation and its regulation. Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology 2015;8(2):109–19. (In Russ.)].
2. Orkin S.H. Hematopoiesis: how does it happen? *Curr Opin Cell Biol* 1995;7(6):870–7. doi: 10.1016/0955-0674(95)80072-7.
3. Bennett C.L., Smith T.J., Weeks J.C., Bredt A.B., Feinglass J., Fetting J.H., Hillner B.E., Somerfield M.R., Winn R.J. Use of hematopoietic colony stimulating factors: the American society of clinical oncology survey. *J Clin Oncol* 1996;14(9):2511–20. doi: 10.1200/JCO.1996.14.9.2511.
4. Kiel M.J., Yilmaz O.H., Iwashita T., Yilmaz O.H., Terhorst C., Morrison S.J. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell* 2005;121(7):1109–21. doi: 10.1016/j.cell.2005.05.026.
5. 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.
6. Civriz Bozdag S., Tekgunduz E., Altuntas F. The current status in hematopoietic stem cell mobilization. *J Clin Apher* 2015;30(5):273–80. doi: 10.1002/jca.21374.
7. Dreger P., Kloss M., Petersen B., Haferlach T., Loffler H., Schmitz N. Autologous progenitor cell transplantation: prior exposure to stem cell-toxic drugs determines yield and engraftment of peripheral blood progenitor cell but not of bone marrow grafts. *Blood* 1995;86(10):3970–8. PMID: 7579368.
8. Sugrue M.W., Williams K., Pollock B.H., Khan S., Peracha S., Wingard J.R., Moreb J.S. Characterization and outcome of ‘hard to mobilize’ lymphoma patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma* 2000;39(5–6):509–19. doi: 10.3109/10428190009113381.
9. Schmitz N., Linch D.C., Dreger P., Goldstone A.H., Boogaerts M.A., Ferrant A., Demuynck H.M., Link H., Zander A., Barge A. Randomised trial of filgrastim- mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients. *Lancet* 1996;347(8998):353–7. doi: 10.1016/s0140-6736(96)90536-x.
10. Copland M., Alcorn M., Patton D., Doig A., Farrell E., Currie C., Sinclair J.E., Parker A., Douglas K.W. Significantly lower cryopreservation volumes for PBSC collections using Spectra Optia(R) version 5 software compared with the MNC setting on COBE(R) Spectra, particularly when using plerixafor for mobilization. *Blood* 2010;116(21):825. doi: 10.1182/blood.V116.21.825.825.
11. Mendez-Ferrer S., Lucas D., Battista M., Frenette P.S. Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations. *Nature* 2008;452(7186):442–7. doi: 10.1038/nature06685.
12. Katayama Y., Battista M., Kao W.M., Hidalgo A., Peired J.A., Thomas S.A., Frenette P.S. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell* 2006;124(2):407–21. doi: 10.1016/j.cell.2005.10.041.
13. Sugiyama T., Kohara H., Noda M., Takashi N. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity* 2006;25(6):977–88. doi: 10.1016/j.immuni.2006.10.016.
14. Ulyanova T., Scott L.M., Priestley G.V., Jiang Y., Nakamoto B., Koni P.A., Papayannopoulou T. VCAM-1 expression in adult hematopoietic and nonhematopoietic cells is controlled by tissue-inductive signals and reflects their developmental origin. *Blood* 2015;106(1):86–94. doi: 10.1182/blood-2004-09-3417.
15. Winkler I.G., Sims N.A., Pettit A.R., Barbier V., Nowlan B., Helwani F., Poulton I.J., van Rooijen N., Alexander K.A., Raggatt L.J., Levesque J.P. Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs. *Blood* 2010;116(23):4815–28. doi: 10.1182/blood-2009-11-253534.
16. Haas R., Mohle R., Fruhauf S., Goldschmidt H., Witt B., Flentje M., Wannenmacher M., Hunstein W. Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. *Blood* 1994;83(12):3787–94. PMID: 751521.
17. Dingli D., Nowakowski G.S., Dispenzieri A., Lacy M.Q., Hayman S., Litzow M.R., Gastineau D.A., Gertz M.A. Cyclophosphamide mobilization does not improve outcome in patients receiving stem cell transplantation for multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma* 2006;6(5):384–8. doi:10.3816/CLM.2006.n.014.
18. Desikan K.R., Barlogie B., Jagannath S., Vesole D.H., Siegel D., Fassas A., Munshi N., Singhal S., Mehta J., Tindle S., Nelson J., Bracy D., Mattox S., Tricot G. Comparable engraftment kinetics following peripheral-blood stem-cell infusion mobilized with granulocyte colony-stimulating factor with or without cyclophosphamide in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 1998;16(4):1547–53. doi: 10.1200/JCO.1998.16.4.1547.
19. 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.
20. De Clercq E. Mozobil® (Plerixafor, AMD3100), 10 years after its approval by the US Food and Drug Administration. *Antivir Chem Chemother* 2019;27:2040206619829382. doi: 10.1177/2040206619829382.
21. Lee H.M., Wu W., Wyszczynski M., Liu R., Zuba-Surma E.K., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z. Impaired mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells in C5-deficient mice supports the pivotal involvement of innate immunity in this process and reveals novel promobilization effects of granulocytes. *Leukemia* 2009;23(11):2052–62. doi: 10.1038/leu.2009.158.
22. Levesque J.P., Liu F., Simmons P.J., Betsuyaku T., Senior R.M., Pham C., Link D.C. Characterization of hematopoietic progenitor mobilization in protease-deficient mice. *Blood* 2014;104(1):65–72. doi: 10.1182/blood-2003-05-1589.
23. Dar A., Schajnovitz A., Lapid K., Kalinkovich A., Itkin T., Ludin A., Kao W.M., Battista M., Tesio M., Kollet O., Cohen N.N., Margalit R., Buss E.C., Baleux F., Oishi S., Fujii N., Laroche A., Dunbar C.E., Broxmeyer H.E., Frenette P.S., Lapidot T. Rapid mobilization of hematopoietic progenitors by AMD3100 and catecholamines is mediated by CXCR4-dependent SDF-1 release from bone marrow stromal cells. *Leukemia* 2011;25(8):1286–96. doi: 10.1038/leu.2011.62.
24. Christopher M.J., Liu F., Hilton M.J., Long F., Link D.C. Suppression of CXCL12 production by bone marrow osteoblasts is a common and critical pathway for cytokine-induced mobilization. *Blood* 2009;114(7):1331–9. doi: 10.1182/blood-2008-10-184754.
25. Calandra G., McCarty J., McGuirk J., Tricot G., Crocker S.A., Badel K., Grove B., Dye A., Bridger G. AMD3100 plus G-CSF can successfully mobilize CD34+ cells from non-Hodgkin’s lymphoma, Hodgkin’s disease and multiple myeloma patients previously failing mobilization with chemotherapy and/or cytokine treatment:

- compassionate use data. *Bone Marrow Transplant* 2008;41(4):331–8. doi: 10.1038/sj.bmt.1705908.
26. Lie A.K., To L.B. Peripheral blood stem cells: transplantation and beyond. *Oncologist* 1997;2(1):40–9. PMID: 10388028.
 27. Maschan A.A., Balashov D.N., Kurnikova E.E., Trakhtman P.E., Boyakova E.V., Skorobogatova E.V., Novichkova G.A., Maschan M.A. Efficacy of plerixafor in children with malignant tumors failing to mobilize a sufficient number of hematopoietic progenitors with G-CSF. *Bone Marrow Transplant* 2015;50(8):1089–91. doi: 10.1038/bmt.2015.71.
 28. 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.
 29. Morland B., Kepak T., Dallorso S., Sevilla J., Murphy D., Luksch R., Yaniv I., Bader P., Rößler J., Bisogno G., Maecker-Kolhoff B., Lang P., Zwaan C.M., Sumerauer D., Kriván G., Bernard J., Liu Q., Doyle E., Locatelli F. Plerixafor combined with standard regimens for hematopoietic stem cell mobilization in pediatric patients with solid tumors eligible for autologous transplants: two-arm phase I/II study (MOZAIC). *Bone Marrow Transplant* 2020. [Epub ahead of print]. doi: 10.1038/s41409-020-0836-2.
 30. Kawano Y., Takaue Y., Watanabe T., Abe T., Okamoto Y., Iwai A., Iwai T., Watanabe A., Ito E., Makimoto A., Nakagawa R., Watanabe H., Sato J., Suenaga K., Suzuya H., Ohnishi T., Kanamaru S., Kaneko M., Kuroda Y. Efficacy of the mobilization of peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor in pediatric donors. *Cancer Res* 1999;59:3321–4. PMID: 10416586.
 31. Fu P., Bagai R.K., Meyerson H., Kane D., Fox R.M., Creger R.J., Cooper B.W., Gerson S.L., Laughlin M.J., Koc O.N., Lazarus H.M. Pre-mobilization therapy blood CD34⁺ cell count predicts the likelihood of successful hematopoietic stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant* 2006;38(3):189–96. doi: 10.1038/sj.bmt.1705431.
 32. Empringham B., Chiang K.Y., Krueger J. Collection of hematopoietic stem cells and immune effector cells in small children. *Transfus Apher Sci* 2018;57(5):614–8. doi: 10.1016/j.transci.2018.10.004.
 33. Курникова Е.Е., Кумукова И.Б., Гуз И.В., Хисматуллина Р.Д., Шаманская Т.В., Фадеева М.С., Глушкова С.Ю., Бриллиантова В.В., Варфоломеева С.Р., Трахтман П.Е. Результаты мобилизации, афереза и аутореинфузии гемопоэтических стволовых клеток у детей с нейробластомой: роль мониторинга количества CD34⁺ клеток в периферической крови. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2017;16(1):28–39. doi: 10.24286/1726-1708. [Kurnikova E.E., Kumukova I.B., Guz I.V., Chismatullina R.D., Shamanskaya T.V., Fadeeva M.S., Glushkova S.Yu., Brilliantova V.V., Varfolomeyeva S.R., Trakhtman P.E. Results of mobilization, apheresis and autotransfusion of hematopoietic stem cells in children with neuroblastoma: role of monitoring the count of CD34⁺ cells in peripheral blood. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2017;16(1):28–39. (In Russ.)].
 34. Xie Y., Yin T., Wiegraeb W., He X.C., Miller D., Stark D., Perko K., Alexander R., Schwartz J., Grindley J.C., Park J., Haug J.S., Wunderlich J.P., Li H., Zhang S., Johnson T., Feldman R.A. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real-time imaging. *Nature* 2009;457(7225):97–101. doi: 10.1038/nature07639.
 35. Grupp S.A., Cohn S.L., Wall D., Reynolds P.C.; Hematopoietic Stem Cell Transplant Discipline and the Neuroblastoma Disease Committee, Children's Oncology Group. Collection, storage, and infusion of stem cells in children with high-risk neuroblastoma: saving for a rainy day. *Pediatr Blood Cancer* 2006;46(7):719–22. PMID: 16429413.
 36. 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.
 37. Flomenberg N., Devine S.M., Dipersio J.F., Liesveld J.L., Rowley S.D., Vesole D.H., Badel K., Calandra G. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. *Blood* 2005;106(5):1867–74. doi: 10.1182/blood-2005-02-0468.
 38. Miano M., Labopin M., Hartmann O., Angelucci E., Cornish J., Gluckman E., Locatelli F., Fischer A., Egeler R.M., Or R., Peters C., Ortega J., Veys P., Bordignon P., Iori A.P., Niethammer D., Rocha V., Dini G.; Paediatric Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Haematopoietic stem cell transplantation trends in children over the last three decades: a survey by the paediatric diseases working party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007;39(2):89–99. doi: 10.1038/bmt.

Статья поступила в редакцию: 11.12.2019. Принята в печать: 04.02.2020.

Article was received by the editorial staff: 11.12.2019. Accepted for publication: 04.02.2020.