

ПРОБЛЕМИ ЗАБОРУ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ДІТЕЙ ІЗ СОЛІДНИМИ НОВОУТВОРЕННЯМИ



Г.І. Климнюк, С.В. Павлик,
Е.В. Шайда, Н.М. Храновська,
О.В. Ніколаєва, О.В. Білоконь,
О.Й. Іжовський, О.В. Скачкова,
О.А. Ротарь, О.О. Ожиганов

Адреса:

Павлик Сергій Володимирович
03022, Київ, вул. Ломоносова, 33/43
Національний інститут раку
Тел.: (044) 259-01-85
Факс: (044) 259-02-73
E-mail: pavlyksv@yandex.ua

Ключові слова: стовбурові клітини периферичної крові, мобілізація, колекція стовбурових клітин периферичної крові, солідні новоутворення у дітей, високодозова хіміотерапія.

Отримання «достатньої» кількості гемопоетичних стовбурових клітин — основна умова безпечного проведення високодозової мієлоаблятивної хіміотерапії. Саме тому мобілізація та колекція є надзвичайно важливим елементом підготовки до високодозової хіміотерапії. За даними багатьох досліджень, ймовірність неефективної колекції гемопоетичних стовбурових клітин становить 14–40%. Мета роботи — вивчити результативність мобілізації стовбурових клітин периферичної крові у дітей зі злякисними солідними новоутвореннями. Проаналізовано мобілізаційні процедури, що проводили у 133 пацієнтів дитячого віку зі злякисними солідними пухлинами, які проходили лікування у відділенні дитячої онкології у період з 2008 по 2013 рік. Перша мобілізаційна процедура була ефективною у 71 (53,4%) пацієнта. У 24 (18,0%) дітей отримати необхідну кількість стовбурових клітин периферичної крові не вдалося.

ВСТУП

Одним із важливих етапів у проведенні комплексної терапії у дітей зі злякисними солідними новоутвореннями групи високого ризику є застосування високодозової хіміотерапії (ВДХТ) із трансплантацією гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК). Безпечно провести мієлоаблятивну хіміотерапію (ХТ) можна тільки попередньо отримавши «достатню» кількість ГСК. Саме тому одержання необхідної кількості ГСК є надзвичайно важливим елементом підготовки до ВДХТ.

Заданими багатьох досліджень, ймовірність неефективної колекції ГСК становить 14–40% [1–3]. Причини, які ускладнюють, а інколи й унеможливають проведення колекції, вивчають давно. Однак наразі достовірного чи ймовірного способу вирішення цієї проблеми ще не запропоновано. Фактори, що можуть знижувати можливість ефективно мобілізувати та колекції СКПК (фактори поганого прогнозу), можна поділити на дві групи.

Первинні (анатомо-фізіологічні, біологічні). У цю групу включають особливості макро- та мікрооточення ГСК: кістковомозковий матрикс, цитокіни та хемокіни, антагоністи рецепторів адгезії, фактори росту та ін. [4–6].

Вторинні (набуті внаслідок розвитку захворювання чи в процесі лікування). У цю групу можна включити чинники, що призводять до пригнічення, виснаження чи заміщення кісткового мозку: лейкоз, мієломна хвороба та ін., тривале лікування цитостатиками, променева терапія на зони кровотворення та її дози, часте чи тривале застосування колонієстимулюючого фактора (КСФ).

На жаль, на більшість перелічених факторів вплинути можна обмежено або й зовсім неможливо, оскільки для досягнення найкращих результатів необхідно дотримуватися протоколів лікування максимально ретельно. Також достатньо часто необхідність у ВДХТ із трансплантацією СКПК виникає у попередньо лікованих пацієнтів (рецидиви захворювань, прогресування на фоні стандартного лікування). Супровідна терапія (застосування КСФ) тільки інколи може бути скоригована в бік раціонального використання, якщо необхідність ВДХТ відома уже на початку лікування.

Стандартним підходом до мобілізації СКПК залишається призначення КСФ, а частіше — КСФ після проведеної ХТ. КСФ, за даними виробників та багатьох авторів, впливають на проліферацію та мобілізацію СКПК не прямо, а через низку посередників, шляхом виділення цитокінів, інтерлейкінів та інгібіторів адгезії [7, 8]. У більшості випадків цього достатньо і певна (велика) кількість ГСК відриваються від матриксу та виходять у периферичну кров. Змінюючи мобілізуючий режим, дози та режим введення КСФ, дослідники у кожному окремому випадку стараються отримати достатню кількість СКПК.

Виразений синергізм дії та, можливо, хороший мобілізаційний ефект, за даними попередніх досліджень, очікується від комбінації гранулоцитарного КСФ із AMD3100 (антагоніст рецепторів адгезії) [9–12] чи з хемокіном GRObeta [13]. У країнах Європи та Америки уже зареєстровано препарат, що є антагоністом рецепторів адгезії у кістковомозковому

матрикс і тому прямо впливає на ефективність мобілізації СКПК. У багатьох дослідженнях показано ефективність одночасного застосування препарату плеріксафор та КСФ [14–16].

Мета роботи — вивчити результативність мобілізації СКПК у дітей зі злоякісними солідними новоутвореннями.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проаналізовано мобілізаційні процедури, що проводили у 133 дітей зі злоякісними солідними новоутвореннями, які проходили лікування у відділенні дитячої онкології Національного інституту раку у період з 2008 по 2013 р. СКПК колекціонували як для проведення ВДХТ, так і для підтримки кровотворення після інтенсивної немієлоаблятивної ХТ. У групу включено пацієнтів із нейробластою, саркомою Юїнга/примітивною нейроектодермальною пухлиною (ПНЕП), саркомою м'яких тканин, нефробластою, медулобластою, герміногенними пухлинами.

Процес мобілізації та лейкоцитаферез для отримання СКПК проводили під час та на фоні стандартної лікувальної програми. У пацієнтів з ініціальним ураженням кісткового мозку обов'язково підтверджували його санацію на момент мобілізації шляхом гістологічного та цитологічного дослідження. Стимуляцію гранулоцитопоезу розпочинали після закінчення мобілізаційного курсу, частіше на 7–8-й день, при кількості лейкоцитів $<1,0 \cdot 10^6$ /мл. Доза КСФ становила 5–10 мкг/м²/добу. Препарат вводили підшкірно чи внутрішньовенно 1 або 2 рази на добу. Стимуляцію кровотворення КСФ не припиняли до останнього дня аферезу. У випадку неефективної мобілізаційної процедури проводили

другу чи третю спробу мобілізації — призначали КСФ самостійно в дозі 10 мкг/кг чи в комбінації з іншим хіміотерапевтичним режимом. День проведення лейкоцитаферезу визначали за рівнем CD34⁺ клітин у периферичній крові. Достатнім вважали рівень 15 клітин/мкл, бажаним — >20 клітин/мкл периферичної крові. При меншій кількості клітин лейкоцитаферез не проводили, а стимуляцію продовжували за умови збереження збільшення кількості лейкоцитів та тромбоцитів чи припиняли за відсутності такої динаміки. Процедуру лейкоцитаферезу здійснювали «двоголовим» методом при безперервному току крові. Для проведення апаратного лейкоцитаферезу використовували клітинні сепаратори Frezenius AS 104, Frezenius AS TEC 204. Частіше проводили обробку 3–4 об'ємів циркулюючої крові пацієнта. Достатнім вважали отримання $>3 \cdot 10^6$ CD34⁺ клітин/кг маси пацієнта. При одержанні недостатньої кількості СКПК за одну процедуру лейкоцитаферез повторювали у наступні дні. За одну мобілізаційну процедуру проводили від 1 до 3 сеансів лейкоцитаферезу.

Визначення кількості ГСК виконували методом проточної цитофлюориметрії в прямій реакції імунофлюорисценції за протоколом ISHAGE, розробленим CD34⁺ Haematopoietic Stem Cell Working Party для цілей трансплантації кровотворної тканини на апараті «FACScan» фірми «BD» (США) [17].

РЕЗУЛЬТАТИ

У 71 (53,4%) пацієнта перша мобілізаційна процедура була ефективною і дала можливість отримати достатню кількість СКПК. Дві мобілізаційні процедури були необхідними для одержання достатньої кількості СКПК у 16 (12%) випадках.

У 10 (7,5%) пацієнтів проведено 3–4 мобілізаційні процедури. У 10 (7,5%) пацієнтів, незважаючи на невдалі попередні спроби отримати достатню кількість СКПК, повторна мобілізація була успішною через декілька місяців. Попри зміну режимів ХТ, підвищення дози КСФ не вдалося отримати необхідну кількість СКПК у 24 (18,0%) дітей. Проведено аналіз групи, у якій достатню кількість ГСК було отримано за одну мобілізаційну процедуру, та групи, в якій мобілізації були неефективними (табл. 1).

Встановлено, що статистично достовірної різниці між групами за віком, частотою ураження кісткового мозку, попереднім лікуванням пацієнтів (лікувальні програми до проведення мобілізації), мобілізаційними режимами не виявлено (табл. 2–4). Тільки у групі пацієнтів із саркомою Юїнга виявлено, що збільшення кількості курсів проведеної ХТ призводить до зниження результативності мобілізації (див. табл. 3).

Середній вік пацієнтів із саркомою Юїнга/ПНЕП у групі, в якій мобілізації були неефективними, становив 14,8 року, а у групі з ефективними мобілізаційними процедурами — 12,7 року. Середня кількість курсів ХТ до мобілізації у цих групах становили 6,5 та 4,7 відповідно. Ця різниця статистично достовірна.

У пацієнтів із саркомами м'яких тканин залежність від віку протилежна. Середній вік хворих на саркоми м'яких тканин у групі неефективних мобілізацій становив 4,2 року, а в групі ефективних мобілізацій — 7,1 року.

ВИСНОВКИ

Отримання достатньої кількості СКПК залишається важливим етапом у підготовці до ВДХТ при лікуванні дітей зі злоякісними солідними новоутвореннями. Вік пацієнтів та інтенсивність попереднього лікування не впливають на результативність мобілізаційної процедури. Неефективність мобілізації СКПК у певній групі хворих, ймовірно, пов'язана з індивідуальними їх особливостями (макро- та мікрооточення ГСК). Підвищення ефективності цієї процедури можна чекати від введення в клінічну практику нових препаратів, що впливають на молекулярні механізми мобілізації ГСК у кістковому мозку.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Stiff P., Gingrich R., Luger S. et al. (2000) A randomized phase 2 study of PBPC mobilization by stem cell factor and filgrastim in heavily pretreated patients with Hodgkin's disease or non-Hodgkin's lymphoma. *Blood Marrow Transplant*, 26: 471–481.
2. Li J., Zhang W., Duan M.-H. et al. (2013) PBSC mobilization in newly diagnosed patients with POEMS syndrome: outcomes and prognostic factors. *Blood Marrow Transplant*, 48: 233–237.
3. Watts M.J., Ings S.J., Leverett D. (2000) ESHAP and G-CSF is a superior blood stem cell mobilizing regimen compared to cyclophosphamide 1.5 g m² and G-CSF for pre-treated lymphoma patients: a matched pairs analysis of 78 patients. *Brit. J. Cancer*, 82(2): 278–282.

Таблиця 1. Загальна характеристика пацієнтів у аналізованих групах

	Неефективні мобілізації (n=24)		Ефективні мобілізації (n=71)		p
	Середнє	Min-Max	Середнє	Min-Max	
Вік	8,5	1–17	5	1–18	0,35
Кількість курсів ХТ	6	2–10	5	1–16	0,15

Таблиця 2. Характеристика пацієнтів у аналізованих групах (нейробластома)

	Неефективні мобілізації (n=4)		Ефективні мобілізації (n=27)		p
	Середнє	Min-Max	Середнє	Min-Max	
Вік	2,5	1–4	3,3	1–6	0,42
Кількість курсів ХТ	6,0	3–8	5,9	2–14	0,65

Таблиця 3. Характеристика пацієнтів у аналізованих групах (саркома Юїнга/ПНЕП)

	Неефективні мобілізації (n=10)		Ефективні мобілізації (n=18)		p
	Середнє	Min-Max	Середнє	Min-Max	
Вік	14,8	12–17	12,7	1–17	0,15
Кількість курсів ХТ	6,5	5–10	4,7	2–16	0,04

Таблиця 4. Характеристика пацієнтів у аналізованих групах (саркоми м'яких тканин)

	Неефективні мобілізації (n=3)		Ефективні мобілізації (n=13)		p
	Середнє	Min-Max	Середнє	Min-Max	
Вік	4,2	2–6	7,1	1–18	0,5
Кількість курсів ХТ	5,2	3–8	6,0	1–11	0,64

4. Nervi B., Link D.C., Di Persio J.F. (2006) Cytokines and hematopoietic stem cell mobilization. *J. Cell Biochem.*, 99(3): 690–705.

5. Giering A., Bogunia-Kubik K. (2007) The role of the SDF-1-CXCR4 axis in hematopoiesis and the mobilization of hematopoietic stem cells to peripheral blood. *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*, 13(61): 369–383.

6. Pelus L.M., Bian H., Fukuda S. et al. (2005) The CXCR4 agonist peptide, CTCE-0021, rapidly mobilizes polymorphonuclear neutrophils and hematopoietic progenitor cells into peripheral blood and synergizes with granulocyte colony-stimulating factor. *Exp. Hematol.*, 33(3): 295–307.

7. Kronenwett R., Martin S., Haas R. (2001) The role of cytokines and adhesion molecules for mobilization of peripheral blood stem cells. *Stem Cell.*, 18: 320–330.

8. Petit I., Szyper-Kravitz M., Nagler A. et al. (2002) G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat. Immunol.*, 3: 687–694.

9. Broxmeyer H.E., Hangoc G., Cooper S. et al. (2007) AMD3100 and CD26 modulate mobilization, engraftment, and survival of hematopoietic stem and progenitor cells mediated by the SDF-1/CXCL12-CXCR4 axis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1106: 1–19.

10. Broxmeyer H.E., Orschell C.M., Clapp D.W. et al. (2005) Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J. Exp. Med.*, 201(8): 1307–1318.

11. Liles W.C., Rodger E., Broxmeyer H.E. et al. (2005) Augmented mobilization and collection of CD34+ haematopoietic cells from normal human volunteers stimulated with granulocyte-colony-stimulating factor by single-dose administration of AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Transfusion*, 45(3): 295–300.

12. Hess D.A., Bonde J., Craft T.P. et al. (2007) Human progenitor cells rapidly mobilized by AMD3100 repopulate NOD/SCID mice with increased frequency in comparison to cells from the same donor mobilized by granulocyte colony stimulating factor. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 13(4): 398–411.

13. Fukuda S., Bian H., King A.G. et al. (2007) The chemokine GRObeta mobilizes early hematopoietic stem cells characterized by enhanced homing and engraftment. *Blood*, 110(3): 860–869.

14. Chen A.J., Bains T., Murray S. et al. (2012) Clinical experience with a simple algorithm for plerixafor utilization in autologous stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplantation*, 47: 1526–1529.

15. Shimizu N., Sakaida E., Ohwada C. et al. (2012) Mobilization of PBSCs in poor mobilizers with POEMS syndrome using G-CSF with plerixafor. *Bone Marrow Transplantation*, 47: 1587–1588.

16. Attolico I., Pavone V., Ostuni A. et al. (2012) Plerixafor added to chemotherapy plus G-CSF is safe and allows adequate PBSC collection in predicted poor mobilizer patients with multiple myeloma or lymphoma. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 18: 241–249.

17. Serke S., Johnsen H.E. (2001) A European reference protocol for quality assessment and clinical validation of autologous haematopoietic blood progenitor and stem cell grafts. *Bone Marrow Transplant.*, 27: 463–470.

Проблемы забора стволовых клеток периферической крови у детей с солидными новообразованиями

Г.И. Климяк, С.В. Павлик, Э.В. Шайда, Н.Н. Храновская, О.В. Николаева, О.В. Билоконь, А.Й. Ижовский, О.В. Скачкова, О.А. Ротарь, О.А. Ожиганов

Национальный институт рака, Киев

Резюме. Получить «достаточное» количество гемопоэтических стволовых клеток — главное условие безопасного проведения высокодозной миелоаблятивной химиотерапии. Именно поэтому мобилизация и коллекция является чрезвычайно важным элементом подготовки к высокодозной химиотерапии. По данным многих исследований, вероятность неэффективной коллекции гемопоэтических стволовых клеток составляет 14–40%. Цель работы — изучить результативность мобилизации стволовых клеток периферической крови у детей со злокачественными солидными новообразованиями. Проанализированы мобилизационные процедуры, которые проводились у 133 пациентов детского возраста со злокачественными солидными опухолями, которые проходили лечение в отделении детской онкологии в период с 2008 по 2013 год. Первая мобилизационная процедура была эффективной у 71 (53,4%) пациента. У 24 (18,0%) детей получить необходимое количество стволовых клеток периферической крови не удалось.

Ключевые слова: стволовые клетки периферической крови, мобилизация, коллекция стволовых клеток периферической крови, солидные новообразования у детей, высокодозная химиотерапия.

Problems with mobilization of peripheral blood stem cell in children with solid tumors

H.I. Klymnyuk, S.V. Pavlyk, E.V. Shayda, N.M. Khranovska, O.V. Nikolayeva, O.V. Bilokon, O.Y. Izhovskyy, O.V. Skachkova, O.A. Rotar, O.O. Ozhyhanov

National Cancer Institute, Kyiv

Summary. Only adequate number of peripheral blood stem cells ensures the implementation of high-dose chemotherapy safety. Which is why, mobilization and collection is an extremely important element of high-dose chemotherapy. According to many studies, the probability of inefficient collection of hematopoietic stem cells is 14–40%. Purpose is to examine effectiveness of peripheral blood stem cell mobilization in children with malignant solid tumors. We analyzed the mobilization procedure in 133 children with malignant solid tumors who were treated in the department of pediatric oncology in the period from 2008 to 2013. The first mobilization procedure was effective in 71 (53.4%) patients. In 24 (18.0%) children was unable to obtain the necessary amount peripheral blood stem cell.

Key words: peripheral blood stem cells, mobilization, collection of peripheral blood stem cells, solid tumors in children, high-dose chemotherapy.