

УДК 615.273.015:616.155.348-018-085]-089.843

**РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РОСТА ПОСЛЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ С ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ СТВОЛОВЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК**Е. А. Кузьмич<sup>1</sup>, В. А. Змачинский<sup>2</sup><sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр гематологии и трансфузиологии, г. Минск<sup>2</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск

В статье приведены ранние и долгосрочные результаты сочетанного применения гемопоэтических факторов роста — эритропоэтина и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора после высокодозной химиотерапии с трансплантацией стволовых гемопоэтических клеток у пациентов с гематологическими и онкогематологическими заболеваниями. Установлено, что сочетанная терапия гемопоэтическими факторами роста у пациентов после аллогенной трансплантации стволовых гемопоэтических клеток приводит к улучшению приживления донорского костного мозга. Получено уменьшение средней длительности пребывания в стационаре в посттрансплантационном периоде, а также увеличение показателей вероятностной 5-летней безрецидивной выживаемости пациентов с лимфомой Ходжкина, пролеченных сочетанием эритропоэтина и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора.

**Ключевые слова:** трансплантация стволовых гемопоэтических клеток, гемопоэтические факторы роста, эритроцитарный химеризм, сроки госпитализации, выживаемость.

**RESULTS OF THE APPLICATION OF HAEMOPOIETIC GROWTH FACTORS AFTER HIGH DOSE CHEMOTHERAPY WITH TRANSPLANTATION OF HAEMOPOIETIC STEM CELLS**E. A. Kuzmich<sup>1</sup>, V. A. Zmachinskiy<sup>2</sup><sup>1</sup>Republican Research Center for Hematology and Transfusiology, Minsk<sup>2</sup>Belarussian Medical Academy for Postgraduate Education, Minsk

The article presents early and long-term results of the combined application of haemopoietic growth factors, i.e. erythropoietin and granulocyte colony-stimulating factor after high-dose chemotherapy with haemopoietic stem cell transplantation in patients with hematologic and oncohematologic disorders. It has been established that the combined therapy with haemopoietic growth factors after the allogeneic transplantation of haemopoietic stem cell leads to better donor marrow engraftment. This reduces the average patients' stay at hospital in the posttransplantation period and increases the indicators of 5-year-old non-relapsing survival rate of patients with Hodzhkin's lymphoma treated with a combination of erythropoietin and granulocyte colony-stimulating factor.

**Key words:** transplantation of haemopoietic stem cells, haemopoietic growth factors, erythrocyte chimera, hospitalization terms, survival rate.

**Введение**

Трансплантация стволовых гемопоэтических клеток (ТГСК) с предшествующей высокодозной химиотерапией (ВХТ) является эффективным высокоспециализированным методом терапии некоторых онкологических и онкогематологических заболеваний (острые лейкозы, апластическая анемия, миелодиспластический синдром, лимфомы и др.). Важным этапом аллогенной трансплантации стволовых гемопоэтических клеток является лабораторный контроль функционирования трансплантата в организме реципиента. Эритроцитарный химеризм при аллогенной ТГСК является одним из ранних показателей приживления трансплантата, характеризующих уровень замены костномозгового кроветворения реципиента на донорский тип гемопоэза и, как следствие, индикатором лечебного эффекта алломелотрансплантации.

Существенным фактором, ограничивающим применение ВХТ, является значительная гематологическая и органная токсичность, сопровождающаяся высокой вероятностью развития осложнений, особенно в раннем посттрансплантационном периоде [1–3]. Одним из наиболее значимых осложнений ВХТ является цитостатическое повреждение кроветворных клеток костного мозга, приводящее к снижению продукции и функционирования основных показателей гемопоэза. Наиболее опасным при этом является развитие нейтропении, так как нейтрофилы представляют собой один из главных компонентов естественной защиты организма против инфекции. Степень и длительность нейтропении, развивающейся после химиотерапии, в значительной степени определяет вероятность развития жизнеопасных инфекционных осложнений. Одновременно с угнетением лейкопоэза у пациентов

достаточно часто развивается анемия, которая может приводить к значительному ухудшению качества жизни и переносимости лечения за счет тканевой гипоксии. Известно, что гипоксия может вызывать генетическую нестабильность клонов опухолевых клеток, что приводит к преимущественному выживанию генетически измененных опухолевых клеток со сниженной способностью к апоптозу и формированию пула резистентных опухолевых клеток. Развитие гипоксии в опухолевых клетках ассоциируется со снижением контроля над опухолевым процессом, что может сопровождаться ухудшением показателей долговременной выживаемости [4].

С 90-х гг. XX в. в поддерживающей терапии онкогематологических заболеваний успешно применяются гемопоэтические факторы роста (ГРФ). Среди них в гематологии наиболее часто применяются эритропоэтин и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор. Эритропоэтин (ЭПО) — колониестимулирующий фактор, ответственный за пролиферацию и дифференцировку эритроидных предшественников гемопоэза. Гематологический эффект ЭПО заключается в повышении уровня эритроцитов и гемоглобина, что приводит к уменьшению потребности в трансфузиях эритроцитарной массы. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) способен стимулировать пролиферацию предшественников нейтрофилов, ускоряя восстановление содержания этих клеток после химиотерапии. Кроме того, Г-КСФ усиливает некоторые функции нейтрофилов, влияя на противомикробный ответ [5]. Все эти свойства позволили использовать Г-КСФ для предупреждения инфекционных осложнений при высоком риске развития нейтропении после высокодозной химиотерапии.

С целью усиления стимулирующих гемопоэтических свойств цитокинов применяются различные их сочетания, основанные на данных о синергичном действии некоторых ГРФ [6]. О возможной эффективности сочетанной терапии ГРФ свидетельствуют опубликованные данные по применению различных комбинаций ГРФ при режимах мобилизации стволовых кроветворных клеток [7, 8]. В клинических исследованиях была показана способность эритропоэтина потенцировать мобилизационный эффект Г-КСФ или ГМ-КСФ [9]. Так, применение ЭПО в сочетании с Г-КСФ при мобилизации ГСК приводило к увеличению клеточности трансплантата (числа CD 34<sup>+</sup>-клеток) и в результате — к снижению стоимости трансплантации за счет сокращения периода антибиотикотерапии и госпитализации [10]. Хотя механизм данного эффекта не известен, предполагается, что экспрессия ЭПО-рецепторов на CD 34<sup>+</sup>-клетках-предшественниках, праймиро-

ванная Г-КСФ или ГМ-КСФ, может способствовать выживаемости этих клеток [11].

### **Цель**

Изучение влияния сочетанной терапии рекомбинантным человеческим эритропоэтином и гранулоцитарным колониестимулирующим фактором на ранние и долгосрочные результаты высокодозной химиотерапии с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток.

### **Материалы и методы исследования**

Пациенты в группе ЭПО+Г-КСФ получали ЭПО (эпоэтин бета) в дозе 10 000 МЕ 3 раза в неделю подкожно и Г-КСФ (филграстим) по 300 мкг ежедневно подкожно в период с +1 дня после аутологичной или аллогенной трансплантации до восстановления показателей гемопоэза. Пациенты в группе Г-КСФ/ГМ-КСФ получали Г-КСФ (филграстим) по 300 мкг ежедневно подкожно в период с +1 дня после трансплантации до восстановления показателей гемопоэза либо ГМ-КСФ (молграмостим) 300 мкг ежедневно подкожно до восстановления показателей гемопоэза. Гематологическими критериями восстановления кроветворения после ТГСК считали: абсолютное число нейтрофилов  $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$ , лейкоцитов  $> 1 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоцитов  $> 20 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина  $> 90 \text{ г/л}$ , эритроцитов  $> 3 \times 10^{12}/\text{л}$ .

Представлены данные пациентов со следующими диагнозами: лимфома Ходжкина (ЛХ), множественная миелома (ММ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелобластный лейкоз (ОМЛ), хронический миелолейкоз (ХМЛ), апластическая анемия (АА), миелофиброз с миелоидной метаплазией (МФ), острый промиелоцитарный лейкоз (ОПМЛ).

При анализе эритроцитарной химеры были использованы антигенные системы красных кровяных клеток, в фенотипах которых между донором и реципиентом были выявлены отличия. Маркерами для контроля эритроцитарной химеры являлись антигенные детерминанты, определяемые только у одного представителя обследуемой пары. Контроль химеризма производился по появлению антигенов донора в крови реципиента и (или) исчезновению у реципиента антигена, не имеющегося на эритроцитах донора. В разные сроки посттрансплантационного периода в образцах периферической крови реципиента ГСК мы идентифицировали процент эритроцитов, в фенотипе которых присутствует антиген (антигены), определенный в качестве маркера для мониторинга эритроцитарной химеры. При определении маркера донорского типа нарастание во времени количества экспрессирующих его эритроцитов в периферической крови реципиента свидетельствовало о приживлении трансплантата и его функционировании. Снижение на любом этапе посттрансплантационного периода количества

клеток донорского типа в образце позволяло говорить о восстановлении кроветворения фенотипа хозяина. Оценка результатов проводилась серологическим методом по реакции агглютинации с определением в поле зрения соотношения агглютинатов и свободных эритроцитов.

При анализе сроков пребывания в стационаре и долговременной выживаемости представлен анализ данных пациентов с лимфомой Ходжкина ( $n = 88$ ), которые были пролечены методом ВХТ с последующей аутологичной ТГСК. Из них 28 пациентов получали сочетание ЭПО+Г-КСФ, 16 — монотерапию Г-КСФ, 44 пациента не получали терапию ГРФ.

С целью оценки клинической эффективности применения ГРФ у пациентов, подвергнутых ВХТ с последующей ТГСК, мы оценили показатели 5-летней безрецидивной выживаемости (БРВ). Анализ эффективности проведенного лечения подлежали 83 пациента с лимфомой Ходжкина. Нами были изучены следующие группы больных по статусу заболевания на момент ТГСК:

- 1) группа пациентов с 1 рецидивом (рецидив до 12 месяцев с момента достижения полной ремиссии);
- 2) группа пациентов с первичной полихимиорезистентностью (ПХР);
- 3) группа пациентов с множественными рецидивами (число рецидивов  $> 1$ ).

Данные результатов исследования были занесены в электронную базу данных. Статистическая

обработка данных осуществлялась при помощи компьютерного пакета программ «Statistica», 6.0., а также программы Microsoft Excel, 2003. Для сравнения данных в исследуемых группах использовали непараметрический метод — многофакторный дисперсионный анализ ANOVA, где  $M$  — среднее,  $SD$  — стандартное отклонение. Статистически значимым считалось различие при  $p < 0,05$ . Анализ кривых выживаемости, построенных по методу Kaplan-Meier, проводился при помощи непараметрического log-rank критерия.

#### **Результаты и их обсуждение**

*Оценка показателей эритроцитарной химеры у пациентов после аллогенной ТГСК*

Полученные результаты мониторинга эритроцитарного химеризма у пациентов, подвергнутых аллогенной ТГСК, представлены в таблице 1.

При статистической обработке полученных данных отмечено, что в группе ЭПО+Г-КСФ у большей доли пациентов химера была зарегистрирована до 21 дня. Также выявлена тенденция к увеличению процента донорских эритроцитов в организме реципиента после 21 дня в группе сочетанной терапии ГРФ по сравнению с группами пациентов, пролеченных монотерапией Г-КСФ, и не получавшими ГРФ. Также отмечено сокращение периода до установления «полного» химеризма в группе сочетанной терапии ГРФ. Однако полученные результаты не являются статистически достоверными.

Таблица 1 — Динамика относительного содержания донорских эритроцитов у реципиентов аллогенных ГСК в зависимости от терапии ГРФ

Показатель	Группа без ГРФ		Группа Г-КСФ/ГМ-КСФ		Группа ЭПО+Г-КСФ	
	n	M ± SD	n	M ± SD	n	M ± SD
% химерных Эр, зарегистрир. до 21 дня (15–21) M ± SD	6 (27,3 %)	19,2 ± 16,38	4 (16,6 %)	35,2 ± 27,2	5 (62,5 %)	21,0 ± 2,3
% химерных Эр, зарегистрир. позже 21-го дня (22–107) M ± SD	16 (72,7 %)	29,4 ± 21,6	20 (83,3 %)	26,7 ± 21,8	3 (37,5 %)	46,6 ± 28,8
Ср. число дней до появления 100 % Эр донора M ± SD	113,6 ± 55,5		92,7 ± 32,8		89,1 ± 48,2	

Следует отметить, что из-за малого числа анализируемых случаев разделение трансплантаций на одно- и разгруппные не проводилось. По всей вероятности увеличение количества анализируемых случаев одновременно с разделением трансплантаций на одно- и разгруппные позволило бы получить статистически значимые результаты.

Таким образом, можно предположить, что сочетанная терапия ГРФ в раннем посттрансплантационном периоде аллогенной ТГСК может способствовать ускорению приживле-

ния и размножения донорских эритроцитов в организме реципиента.

*Анализ сроков пребывания в стационаре пациентов с лимфомой Ходжкина*

Стимулирующий эффект ЭПО и Г-КСФ на гемопоэз проявляется в виде сокращения сроков восстановления основных показателей периферической крови (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, нейтрофилы). Это приводит к уменьшению степени тяжести и продолжительности анемического синдрома и лейкопении, требующих интенсивной сопроводительной тера-

пии гемотрансфузиями и антибактериальными препаратами, что во многом определяет продолжительность пребывания пациентов в стационаре. Поэтому одним из показателей, отражающих эффективность проводимой в раннем посттрансплантационном периоде сопроводительной терапии, направленной на профилактику и купирование осложнений ВХТ, является сокращение длительности пребывания пациентов в стационаре.

Данные по срокам пребывания в стационаре в зависимости от терапии ГРФ у пациентов с лимфомой Ходжкина представлены в таблице 2.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, средняя длительность пребывания в стационаре пациентов с лимфомой Ходжкина в подгруппе сочетанной терапии ГРФ достоверно меньше по сравнению с подгруппами без поддержки ГРФ и с монотерапией Г-КСФ.

Таблица 2 — Показатели средней длительности пребывания в стационаре пациентов с лимфомой Ходжкина в зависимости от терапии ГРФ

Показатель	Группа Г-КСФ, n = 16, (M ± SD)	Группа ЭПО+Г-КСФ, n = 28, (M ± SD)	Группа без ГРФ, n = 44, (M ± SD)
Средняя длительность пребывания в стационаре	31,06 ± 16,0	22,8 ± 5,2	32,02 ± 9,4
p	0,01		
	0,0004		

Таблица 3 — Показатели средней длительности пребывания в стационаре в посттрансплантационном периоде пациентов с лимфомой Ходжкина в зависимости от терапии ГРФ

Показатель	Группа Г-КСФ, n = 16, (M ± SD)	Группа ЭПО+Г-КСФ, n = 28, (M ± SD)	Группа без ГРФ, n = 44, (M ± SD)
Средняя длительность пребывания в стационаре в ПТП	16,6 ± 5,4	15,5 ± 7,5	20,2 ± 7,7
p	0,3		
	0,009		
	0,05 (Г-КСФ/без ГРФ)		

Для объективной оценки влияния ГРФ на продолжительность госпитализации мы оценили период пребывания в стационаре в посттрансплантационном периоде (ПТП), так как пациенты получали ГРФ со следующего после трансплантации дня и продолжительность предтрансплантационного периода не отражает эффективность проведенной сочетанной терапии ГРФ.

Как видно из таблицы 3, длительность пребывания в стационаре в ПТП в группе сочетанной терапии достоверно меньше по сравнению с группой без ГРФ. Период госпитализации в группе Г-КСФ по сравнению с группой без ГРФ также имеет тенденцию к укорочению, однако не имеет статистической значимости, что свидетельствует в пользу положительного влияния сочетанной терапии ГРФ.

Вероятно, включение в исследование большего числа пациентов позволило бы найти более существенную разницу в сроках посттрансплантационной госпитализации между группами пациентов, получавшими монотерапию Г-КСФ и сочетанную терапию ЭПО +Г-КСФ.

*Анализ вероятностной 5-летней безрецидивной выживаемости*

Наиболее объективно отражают эффективность ВХТ с ТГСК и последующей поддерживающей терапии долговременные показатели выживаемости, а именно, безрецидивной выживаемости (БРВ). При сравнении 5-летней БРВ выявлена тенденция к увеличению показателей, зафиксированных у пациентов, пролеченных в раннем посттрансплантационном периоде сочетанием ЭПО+Г-КСФ.

Таблица 4 — Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости после ВХТ с ТГСК больных лимфомой Ходжкина в зависимости от терапии ГРФ

Подгруппы больных по статусу заболевания на момент ТГСК	Подгруппы в зависимости от терапии ГРФ		
	Г-КСФ (n = 16)	ЭПО+Г-КСФ (n = 25)	Без ГРФ (n = 42)
	Среднее время наблюдения (лет; границы)		
	5,9 (0,04–12,8)	3,9 (0,08–6,6)	6,7 (0,3–14,7)
Группа рецидив 1 (n = 26)	3	12	11
Группа ПХР (n = 41)	9	9	23
Группа рецидивы > 1 (n = 16)	4	4	8
	Вероятность 5-летней БРВ		
Группа рецидив 1	33 %	71 %	65 %
Группа ПХР	62 %	55 %	53 %
Группа рецидивы > 1	25 %	75 %	57 %

Как видно из таблицы 4, в подгруппе пациентов с первым рецидивом 5-летней БРВ составила 70 % в группе ЭПО+Г-КСФ против 33 % в группе Г-КСФ и 65 % в группе без ГРФ. Пятилетняя БРВ в подгруппе пациентов с ПХР составила 55 % в группе ЭПО+Г-КСФ против 62 % в группе Г-КСФ и 53 % в группе без ГРФ. Пятилетняя БРВ в подгруппе пациентов с множественными рецидивами составила 75 % в группе ЭПО+Г-КСФ против 25 % в группе Г-КСФ и 53 % в группе без ГРФ.

#### **Заключение**

При проведении сочетанной терапии ГРФ у пациентов после аллогенной ТГСК выявлена тенденция к увеличению степени приживления донорского костного мозга в виде относительного содержания донорских эритроцитов в организме реципиента по сравнению с пациентами, получавшими монотерапию Г-КСФ.

Получено статистически значимое уменьшение средней длительности пребывания в стационаре в посттрансплантационном периоде пациентов с лимфомой Ходжкина, пролеченных ЭПО+Г-КСФ ( $15,5 \pm 7,5$ ), по сравнению с пациентами, не получавшими ГРФ ( $20,2 \pm 7,7$ ;  $p = 0,009$ ).

Полученные результаты демонстрируют, что сочетанное применение ЭПО+Г-КСФ у пациентов с лимфомой Ходжкина после ВХТ с ТГСК, имеющих ранний рецидив заболевания, а также множественные рецидивы болезни привело к улучшению показателей 5-летней безрецидивной выживаемости по сравнению с пациентами из групп, пролеченных монотерапией Г-КСФ и не получавших в раннем посттрансплантационном периоде ГРФ.

Вышеприведенные данные позволяют рекомендовать терапию ЭПО+Г-КСФ с +1 дня

после аутологичной и аллогенной ТГСК у пациентов с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями.

#### **БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Intensification of the stem cell transplant induction regimen results in increased treatment-related mortality without improved outcome in multiple myeloma / R. Abraham [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* — 1999. — Vol. 94. — P. 1291–1297.
2. Regimen-related toxicity in patients undergoing bone marrow transplantation / S. Bearman [et al.] // *Journal of Clinical Oncology.* — 1988. — Vol. 6. — P. 1562–1568.
3. High dose melphalan (200 mg/m<sup>2</sup>) supported by autologous stem cell transplantation is safe and effective in elderly (> 65 years) myeloma patients: comparison with younger patients treated on the same protocol / E. Jantunen [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* — 2006. — Vol. 107. — P. 917–922.
4. A randomized, active-control, pilot trial of front-loaded dosing regimens of darbepoetin-alfa for the treatment of patients with anemia during chemotherapy for malignant disease / J. A. Glaspy [et al.] // *Cancer.* — 2003. — Vol. 97. — P. 1312–1320.
5. Human neutrophils produce high levels of the interleukin 1 receptor antagonist in response to granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and tumor necrosis factor alpha / M. McColl [et al.] // *J. Exp. Med.* — 1992. — Vol. 176. — P. 593–598.
6. Белогурова, М. Б. Клиническое использование гемопоэтических ростовых факторов / М. Б. Белогурова // *Практическая онкология.* — 2003. — Т. 4, № 3 — С. 183–190.
7. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone / N. Flomenberg [et al.] // *Blood.* — 2005. — Vol. 106. — P. 1867–1874.
8. Pusic, I. The Use of Growth Factors in Hematopoietic Stem Cell Transplantation / I. Pusic, J. F. DiPersio // *Current Pharmaceutical Design.* — 2008. — Vol. 14. — P. 1950–1961.
9. Addition of erythropoietin to granulocyte colony-stimulating factor after priming chemotherapy enhances hematopoietic progenitor mobilization / A. Olivieri [et al.] // *Bone Marrow Transplantation.* — 1995. — Vol. 16. — P. 765–770.
10. EPO in combination with G-CSF improves mobilization effectiveness after chemotherapy with ifosfamide, epirubicin, and etoposide and reduces costs during mobilization and transplantation of autologous hematopoietic progenitor cells / C. Hart [et al.] // *Bone Marrow Transplantation.* — 2009. — Vol. 43(3). — P. 197–206.
11. Kaushansky, K. Lineage-specific hematopoietic growth factors / K. Kaushansky // *N Engl J Med.* — 2006. — Vol. 354. — P. 2034–2045.

Поступила 29.11.2011

## **УДК 616.136–004.6:611(472.2) МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АТЕРОСКЛЕРОЗА БРЮШНОГО СЕГМЕНТА АОРТЫ СРЕДИ МОЛОДОГО НАСЕЛЕНИЯ ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Е. Е. Линкевич**

**Гомельский государственный медицинский университет**

В соответствии с программой ВОЗ, для эпидемиологических исследований атеросклероза проведено визуально-планиметрическое исследование образцов брюшного сегмента аорты у молодого населения Гомельской области (возрастной интервал 20–49 лет). Атеросклеротический процесс на разных стадиях развития выявлен в 84 (94,4 %) из 89 изучаемых образцов. Осложненные поражения, указывающие на нестабильность патологического процесса, регистрируются уже в возрасте 25–29 лет. Отмечено интенсивное уменьшение с возрастом индекса ФБ/ОП, выражающего отношение площадей фиброзных бляшек и возвышающихся поражений и являющегося интегральным показателем темпа прогрессирования атеросклероза. Представленные результаты свидетельствуют об «омоложении» и быстром прогрессировании атеросклероза в популяции молодого населения Гомельской области, что, в свою очередь, может быть результатом влияния неблагоприятных экзо- и эндогенных факторов на сосудистую стенку.

**Ключевые слова:** атеросклероз, брюшной сегмент аорты, липидные пятна и полосы, возвышающиеся поражения, осложненные поражения.