

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
им. Н.Н. Блохина
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

Степанян Нара Гарегиновна

**ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ МОБИЛИЗАЦИИ
И СБОРА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
У ДЕТЕЙ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП
СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

3.1.28. Гематология и переливание крови

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Варфоломеева Светлана Рафаэлевна

кандидат медицинских наук

Киргизов Кирилл Игоревич

Москва – 2025 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
<p>ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОБИЛИЗАЦИИ И СБОРА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ДЕТЕЙ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)</p>	
1.1 Основные аспекты мобилизации и сбора периферических стволовых клеток у детей со злокачественными новообразованиями	15
1.2 Биологические особенности мобилизации гемопоэтических стволовых клеток	16
1.3 Виды режимов мобилизации гемопоэтических стволовых клеток и их особенности	18
1.4 Антагонисты CXCR4. Механизм действия	19
1.5 Стимуляция гемопоэза гранулоцитарным колониестимулирующим фактором в онкогематологической практике.....	21
1.6 Дополнительные способы стимуляции гемопоэза. Потенциально новые агенты.....	22
1.7 Предикторы недостаточного мобилизационного ответа. Факторы, способствующие неудовлетворительной стимуляции гемопоэтических стволовых клеток	23
1.8 Факторы, связанные с анамнезом заболевания, влияющие на мобилизацию и аферез стволовых клеток	26
1.8.1 Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток в межблоковом периоде терапии злокачественных новообразованиях у детей.....	26
1.8.2 Химиотерапия.....	27
1.8.3 Лучевая терапия	28
1.8.4 Роль противоопухолевого эффекта в мобилизации и аферезе гемопоэтических стволовых клеток.....	29
1.8.5 Метастатическое поражение костного мозга.....	30

1.9 Пациент-ассоциированные факторы, влияющие на режим мобилизации и аферез гемопоэтических стволовых клеток	32
1.9.1 Мобилизирующий потенциал костного мозга.....	32
1.9.2 Циркадные ритмы в стимуляции гемопоэтических стволовых клеток	33
1.9.3 Тромбоцитопения.....	34
1.10 Стандартная схема мобилизации и процедуры сбора гемопоэтических стволовых клеток у пациентов педиатрического профиля и возможности ее оптимизации.....	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1 Критерии включения пациентов в исследование	39
2.2 Инициальные характеристики и стратификация пациентов на группы в зависимости от факторов, влияющих на эффективность мобилизации и афереза гемопоэтических стволовых клеток	39
2.3 Курсы химиотерапии при лечении основного заболевания.....	41
2.4 Разделение пациентов на группы в зависимости от предшествующего лечения	42
2.5 Методы лабораторного и инструментального обследования пациентов перед мобилизацией, аферезом и после сбора гемопоэтических стволовых клеток	43
2.6 Алгоритмы стимуляции гемопоэтических стволовых клеток у детей со злокачественными новообразованиями	44
2.7 Технические особенности сбора стволовых клеток крови у детей	44
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	54
3.1 Оптимизация методов мобилизации и афереза гемопоэтических стволовых клеток	54
3.2 Оценка эффективности мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у детей разных возрастных групп.....	65
3.3 Эффективность мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у детей разных возрастных групп в зависимости от типа опухоли и количества линий химиотерапии	77

3.4 Эффективность разных режимов мобилизации в зависимости от инициальных характеристик пациентов и особенностей протокола мобилизации	80
3.5 Оптимизация режима сепарации клеток в зависимости от уровня CD34+ клеток в день афереза	91
3.6 Разработка методики расчета прогноза вероятности успешной мобилизации и афереза у детей	100
3.7 Алгоритм мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей со злокачественными новообразованиями	106
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	114
ВЫВОДЫ	120
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	122
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	124
ПРИЛОЖЕНИЕ	143
ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное). Химиотерапевтические курсы лечения и их длительность в зависимости от заболевания	143

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Клеточный состав трансплантата имеет ключевую роль в процессе аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) [127]. Общепринятым этапом консолидации онкологических и гематологических заболеваний является высокодозный блок химиотерапии (ВДХТ) с последующей реинфузией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ГСК) [76]. Данные стандарты введены в терапию ряда солидных опухолей [56]. ВДХТ с ауто-ТГСК позволяет достичь хороших результатов, хотя на фоне интенсивных режимов химиотерапии (ХТ) и до момента восстановления кроветворения после ауто-ТГСК, пациент подвержен жизнеугрожающим инфекционным осложнениям, требующим интенсивной сопроводительной терапии [77]. Основная цель ауто-ТГСК заключается в преодолении первичной и приобретенной резистентности к цитостатикам и в быстром восстановлении кроветворения у больных [9].

В педиатрической практике используют три основных источника клеток: стволовые клетки из пуповинной крови (полученные в процессе родоразрешения), гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) периферической крови, полученные при мобилизации методом аппаратного цитафереза, и стволовые клетки, полученные методом эксфузии костного мозга (КМ) [148]. Наиболее простым и эффективным источником являются ГСК, полученные методом лейкофереза после предшествующей мобилизации [24]. Данный клеточный продукт может иметь высокую клеточность трансплантата и хорошую жизнеспособность клеток (более 95%) для проведения одной или двух ауто-ТГСК согласно протоколу лечения [37].

Основной задачей режима стимуляции гемопоэза является достижение необходимого количества стволовых CD34+ клеток в трансплантате, которое обеспечивает восстановление гемопоэза после ВДХТ [27]. Ранее стимуляцию ГСК проводили только цитостатиками и глюкокортикостероидами, что было

сопряжено с развитием инфекционных осложнений, включая септический шок [43]. В настоящее время в клинической практике для стимуляции ГСК применяют гранулоцитарный – колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) в стандартных или эскалированных дозах как в монорежиме, так и совместно с химиопрепаратами, такими как циклофосфамид и этопозид, оказывающими «раздражающий» эффект на КМ, а также Г-КСФ в комбинации с антагонистом рецептора CXCR4 (chemokine receptor type 4) – плериксафором [117]. Стимуляция ГСК, как правило, проводится после планового курса ХТ в момент восстановления гемопоэза и интегрируется в межблоковый период. Каждый из методов имеет свои преимущества и недостатки, ограничивающие применение в педиатрической практике.

При сборе ГСК у педиатрических больных можно выделить факторы, влияющие положительно на реализацию успешной мобилизации ГСК: отсутствие предлеченности пациента (в анамнезе до режима стимуляции ГСК 1-3 курса ХТ, не имеющих в составе алкилирующих агентов); стабильное соматическое состояние пациента (отсутствие бактериальной, вирусной или грибковой инфекции); отсутствие в анамнезе предшествующей лучевой терапии (ЛТ), первичная мобилизация ГСК, молодой возраст (мобилизация ГСК у детей демонстрирует хорошую результативность, так как у них имеется выраженный гемопоэтический резерв в костно-мозговых нишах); старт стимуляции ГСК на восстановленном гемопоэзе [84]. В большинстве случаев при отсутствии указанных выше факторов пациенты слабо реагируют на мобилизацию периферических ГСК [102]. Кроме того, существует категория больных, которым необходим индивидуальный подход в выборе режима стимуляции гемопоэза. Важно учитывать статус противоопухолевого ответа на ХТ и предшествующие попытки стимуляции гемопоэза. Важным лимитирующим фактором эффективной мобилизации является тромбоцитопения, развившаяся вследствие угнетения мегакариоцитарного ростка в постблоковом периоде, а также на фоне мобилизации ГСК [103, 124].

Проведение афереза у пациентов детского и подросткового возраста имеет ряд особенностей, наиболее выраженных у грудных детей с низким и экстремально низким весом [18]. В первую очередь, это малый объем циркулирующей крови (ОЦК) у таких пациентов, который требует особых параметров сбора и подготовки оборудования к процедуре (предварительное заполнение экстракорпорального контура клеточного сепаратора донорской эритроцитной взвесью). Кроме того, нежелательные явления в виде цитратной интоксикации, которую в данной группе пациентов сложно оценить в момент процедуры, что требует постоянного мониторинга показателей гемодинамики, электролитов и нахождения пациента в условиях реанимации. Еще одна особенность сбора ГСК у данной группы пациентов заключается в необходимости проведения только одного сеанса афереза ГСК и обеспечения требуемого количества CD34+ клеток для трансплантации, с целью исключения дополнительных рисков для пациентов на повторном аферезе [40].

Пациентам более старшего возраста и подросткам возможно проведение более длительных аферезов, однако это может приводить к осложнениям и нежелательным реакциям [81].

Несмотря на большой накопленный опыт мобилизации и сборе ГСК в педиатрической практике, остается большое количество нерешенных вопросов. В настоящее время отсутствует стандартный протокол стимуляции и афереза ГСК, с установленными оптимальными режимами и дозировками препаратов во временных рамках и с указанием контрольных точек лабораторного скрининга прироста ГСК. Необходимо определение критериев эффективности стимуляции для предлеченных пациентов и разработка шкалы оценки эффективности сбора стволовых клеток, что делает эту тему актуальной.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на растущую потребность в проведении качественного сбора ГСК, не всем пациентам удается набрать необходимое количество клеток для

этапа ауто-ТГСК. Требуется разработка алгоритма протокола стимуляции и сбора ГСК для разных категорий пациентов с учетом всех особенностей [9]. В ряде педиатрических клиник необходимо пересмотреть дозирование Г-КСФ и дополнительных агентов, а также рассмотреть возможность начала мобилизации ГСК в более ранние сроки, не достигая восстановления гемопоэза [162]. Отсутствие единого мнения определяет перспективность дальнейших исследований в данном направлении.

Цель исследования

Оптимизация методов мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей разных возрастных групп со злокачественными новообразованиями на основании анализа клинико-лабораторных факторов.

Задачи исследования

1. Определить факторы, влияющие на эффективность мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у детей со злокачественными новообразованиями.
2. Оценить безопасность мобилизации и афереза гемопоэтических стволовых клеток из периферической крови у детей.
3. Сравнить эффективность четырех режимов мобилизации гемопоэтических стволовых клеток из периферической крови у детей, в зависимости от вариантов злокачественной опухоли и количества предшествующих курсов полихимиотерапии.
4. Разработать методики математического расчета вероятности эффективного афереза у детей со злокачественными новообразованиями и алгоритм индивидуализированного протокола мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток из периферической крови.

Научная новизна

1. Впервые в Российской Федерации разработан алгоритм индивидуального протокола мобилизации и афереза ГСК у детей со ЗНО шести возрастных групп на основании изучения факторов, наиболее значимо влияющих на их эффективность.

2. Впервые был проведен сравнительный анализ эффективности четырех режимов мобилизации и афереза ГСК у детей шести возрастных групп и определены критерии включения антагонистов CXCR4 (плериксафора как в стандартных, так и редуцированных дозах).

3. Впервые изучена возможность технической оптимизации режима сепарации ГСК в зависимости от их уровня в день афереза.

4. Впервые оценено влияние предшествующих курсов ХТ и ЛТ на эффективность мобилизации и афереза ГСК с помощью математической модели.

Теоретическая и практическая значимость работы

Значимость данной исследовательской работы заключается в оптимизации подходов к мобилизации и сбору ГСК с целью повышения эффективности данных процедур у детей с ЗНО. Созданы математические модели определяющие эффективность планируемой мобилизации ГСК у пациентов и эффективность последующего их сбора с применением сепаратора типа «Спектра Оптима», что позволяет конкретизировать смену технических параметров сепаратора для конкретного пациента и определить практическое применение у детей, которое необходимо для сбора качественного продукта афереза для последующей ауто-ТГСК. Сравнение эффективности разных режимов мобилизации ГСК в периферической крови помогло определить точные сроки максимального выхода ГСК для назначения дня афереза и обеспечения сбора трансплантата с высокой клеточностью. Разработаны рекомендации по применению данных параметров.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена на базе НИИ Детской онкологии и гематологии им. Л.А. Дурнова НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. В исследование были включены 230 пациентов шести возрастных групп. Это дети до 1 года; от 1 года до 3 лет; от 3 до 6 лет; от 6 до 10 лет; от 10 до 15 лет; от 15 до 18 лет с ЗНО. Всего выполнено 257 мобилизаций и аферезов ГСК. Для указанных пациентов были собраны данные по антропометрическим характеристикам, предшествующим курсам и линиям ХТ, и особенностям диагноза. В рамках исследования у 230 детей проведен один режим мобилизации и один аферез ГСК; 25 пациентов получили вторую мобилизацию и повторную процедуру сбора ГСК; 2 пациента получили три режима мобилизации и провели три афереза ГСК.

Всем детям была проведена мобилизация ГСК с определением категории пациентов, которым показано введение антагонистов CXCR4 (плериксафора) под контролем иммунофенотипирования (ИФТ) с последующим аферезом ГСК в день с пиковым значением CD34⁺ в периферической крови и итоговым ИФТ трансплантата. Изучены разные режимы сбора ГСК на аппарате «Спектра Оптима» (автоматический и полуавтоматический с мануальной коррекцией технических критериев). Выделены новые критерии сбора ГСК для детей с весом менее 15 кг и сформулированы основные положения для обеспечения безопасности процедуры и необходимого количества ГСК за одну процедуру афереза. Разработаны индивидуальные схемы стимуляции стволовых клеток у детей со ЗНО и разработан математический алгоритм расчета успеха как мобилизации ГСК, так и процедуры афереза.

По завершении исследования была проведена статистическая обработка полученных данных с помощью методов объективной и описательной статистики с вычислением процента удовлетворительных и неудовлетворительных результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. Процедура мобилизации и сбора ГСК является безопасной для пациентов всех возрастных групп, вне зависимости от режимов мобилизации и более жестких параметров сбора гемопоэтических стволовых клеток.

2. Ранняя мобилизация ГСК без восстановления гемопоэза необходима пациентам с диагнозами саркомы Юинга высокого риска, интервал ХТ которых составляет 14 дней.

3. Самым эффективным режимом мобилизации является схема «Г-КСФ+циклофосфамид», показывающая высокий уровень CD34+ в конце мобилизации (Me=65,7 p=0,006). Менее эффективным режимом стала схема «Г-КСФ+плериксафор», где уровень CD34+ клеток был значительно ниже на конец мобилизации (Me=17,1 p=0,040)

4. Минимальное количество CD34+ клеток в периферической крови в день афереза, необходимое для заготовки трансплантата от 20 кл/мкл. Но при низком весе пациента до 15 кг уровень CD34+ клеток в периферической крови в день афереза оптимален от 10 до 15 кл/мкл.

5. Мобилизация ГСК после лучевой терапии и проведения более трех курсов ПХТ эффективна у детей. В более 60% случаев осуществляется сбор достаточного количества стволовых клеток.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствует паспортам научных специальностей:

3.1.6. Онкология и лучевая терапия, направление исследований: п. 6 «Изучение на молекулярном, клеточном и органном уровнях особенностей возникновения и развития онкологических заболеваний в детском и подростковом возрасте. Разработка и совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики в области педиатрической онкологии».

3.1.28 Гематология и переливание крови, направление исследований: п. 1 «Изучение системы кроветворения и состава крови в эксперименте и у человека с использованием ряда методов, в частности ответа на стимуляцию гемопоэза», п. 8 «Трансплантация (пересадка) костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток при наследственных и приобретенных заболеваниях, а также комплексное лечение онкологических заболеваний», п. 10 «Исследования гемопоэтических стволовых, мезенхимальных, стромальных и отдельных видов соматических клеток человека и разработки в области клеточных технологий».

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается большим объемом пациентов (230 пациентов, получивших 257 режимов мобилизации с 257 выполненным аферезами ГСК). Проведено наблюдение за всеми группами больных, с выраженной оценкой эффективности мобилизации и афереза у детей разных возрастных групп с ЗНО. Проводилась оценка лабораторного мониторинга на этапе стимуляции и сбора клеточного продукта, а затем все данные обработаны современными методами статистического анализа, что делает данную исследовательскую работу достоверной с точки зрения доказательной медицины.

Апробация диссертации состоялась на совместной научной конференции детского онкологического отделения № 1 (химиотерапии опухолей торакоабдоминальной локализации), детского онкологического отделения № 2 (химиотерапии опухолей опорно-двигательного аппарата), отделения анестезиологии-реанимации и интенсивной терапии, отделения детской трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток НИИ детской онкологии и гематологии имени академика РАМН Л.А. Дурнова, централизованного научно-клинического лабораторного отдела консультативно-диагностического центра, отделения переливания крови, отделения обработки, криоконсервирования и хранения костного мозга и гемопоэтических стволовых

клеток ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, состоявшейся 25 марта 2025 года.

Результаты диссертационной работы, доложены в рамках:

– доклада на II объединенном Конгрессе НОДГО и РОДОГ «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2021» на тему: «Сбор стволовых клеток у пациентов педиатрического возраста со злокачественными новообразованиями» (Москва, 2021);

– доклада на V Юбилейной ежегодной международной конференции «Современные аспекты диагностики и лечения опухолей основных локализаций» на тему: «Трансфузиологическая тактика в детской онкогематологии» (Донецк, 2022);

– доклада на конгрессе «Азиатской национальной ассоциации педиатрической онкологии» на тему: «Сбор стволовых клеток у пациентов с низким и экстремально низким весом» (Ереван, Республика Армения, 2023);

– постерного доклада на конгрессе Европейской ассоциации трансплантации костного мозга EBMT (Париж, Франция, 2023; Глазго, Великобритания, 2024);

– постерного доклада, представленного на встрече международной ассоциации доноров костного мозга WMDA (Кейптаун, ЮАР, 2024);

– доклада на XVIII Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии» на тему: «Предикторы плохой мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у детей со злокачественными новообразованиями» (Минск, 2024);

– доклада на VII Международном форуме онкологии и радиотерапии на тему: «Особенности сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей со ЗНО: опыт НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (Москва, 2024);

– постерный доклад на конгрессе европейской ассоциации трансплантации костного мозга EBMT (Флоренция, Италия, 2025);

– доклада на I международной школе «ТГСК у детей: солидная онкология. Особенности сбора ГСК, трансплантации и иной клеточной терапии» на тему:

«Мобилизация и сбор периферических стволовых клеток» (Санкт-Петербург, 2025).

Результаты исследовательской работы представлены на ученом совете ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них 3 статьи – в научных изданиях, рекомендуемых в перечне ВАК Минобрнауки России для публикации диссертационных работ, а также глава – в национальном руководстве.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материал и методы, результаты исследования, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений, список литературы, приложение. Объем работы составляет 157 страниц текста. Работа иллюстрирована 7 рисунками, 28 таблицами. Список литературы включает 166 источников, 14 отечественных и 152 зарубежных.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОБИЛИЗАЦИИ И СБОРА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ДЕТЕЙ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Основные аспекты мобилизации и сбора периферических стволовых клеток у детей со злокачественными новообразованиями

Ауто-ТГСК является стандартом лечения ряда онкологических и гематологических заболеваний [15]. Этап ауто-ТГСК обеспечивает восстановление показателей крови после ВДХТ для консолидации ремиссии основного заболевания [154]. Предварительно при ауто-ТГСК необходимо провести заготовку аутологичного клеточного трансплантата, что нередко является сложной задачей у пациентов педиатрического профиля [120].

В современной педиатрической практике используются три основных источника ГСК: полученные методом афереза из цельной крови, методом эксфузии из КМ, из пуповинной крови [85]. Наиболее частым источником являются ГСК из периферической крови, поскольку при их использовании удается получить достаточно высокую клеточность трансплантата, обеспечивающую его приживление в рамках ауто-ТГСК [143].

Схемы мобилизации ГСК у детей должны определяться в индивидуальном порядке, ввиду как редкой встречаемости различных ЗНО, так и особенностей ответа детского организма в разные возрастные периоды на ХТ. Основные схемы мобилизации ГСК, применяемые у детей и подростков, включают Г-КСФ в разных дозах (5-20 мкг/кг) как в монорежиме, так и в комбинации с антагонистами CXCR4. Плериксафор представляет собой производное бициллина и является селективным обратимым антагонистом CXCR4 хемокинового рецептора. Плериксафор блокирует связывание CXCR4 с его лигандом SDF-1a, фактором стромальных клеток-1a, также известным как CXCL 12. Считается, что индуцированный плериксафором лейкоцитоз и увеличение количества циркулирующих гемопоэтических

прогениторных клеток является результатом нарушения связи между CXCR4 и его лигандом, которое приводит к появлению в системном кровотоке как зрелых, так и полипотентных клеток. CD34+ клетки, мобилизованные с помощью плериксафора, являются функциональными и способными к приживлению, с долгосрочным потенциалом восстановления популяции [93]. У ряда пациентов применяемые схемы могут оказаться неэффективными, что требует проведения повторного режима стимуляции ГСК или даже отказа от этапа ауто-ТГСК, что, безусловно, ухудшает прогноз заболевания [34].

Несмотря на то что в области мобилизации и афереза ГСК накоплен большой клинический опыт, ряд проблем остаются нерешенными, в частности, сложности сбора ГСК у пациентов с предлеченностью и ЛТ в анамнезе, и у больных с уже проведенной неудачной попыткой мобилизации [123]. Также остается открытым вопрос об интеграции процедуры сбора ГСК в межблоковый период, так как зачастую интервалы между блоками достаточно короткие, что требует ранних сроков старта мобилизации [91]. Как в зарубежной, так и в отечественной литературе по-прежнему недостаточно данных сравнительного анализа результатов мобилизации и афереза периферических стволовых клеток крови при ЗНО у детей в зависимости от разных факторов: анамнеза ЗНО, возраста и антропометрических данных.

1.2 Биологические особенности мобилизации гемопоэтических стволовых клеток

Гемопоз как процесс выработки форменных элементов крови осуществляется под действием гемопоэтических факторов роста: гемоцитокинов, гематогормонов, обеспечивающих регуляцию пролиферации ранних предшественников, дифференцировку коммитированных и функционально активных клеток крови [2, 101].

В педиатрической практике с целью мобилизации гемопоза применяется Г-КСФ [161]. В организме этот ростовой фактор вырабатывается клетками стромы

КМ, эндотелиоцитами, макрофагами и эпителиальными клетками тимуса [12]. Г-КСФ способен ускорить процесс созревания и дифференцировки предшественников нейтрофилов и миграцию их в периферическую кровь из КМ [28].

Г-КСФ играет ключевую роль в созревании и дифференцировке нейтрофилов как в норме, так и при патологических состояниях, и отвечает за резкое увеличение числа нейтрофилов в ответ на инфекционный процесс [25]. Г-КСФ стимулирует предшественники гранулоцитов, эозинофилов, мегакариоцитов, способствует дифференцировке и активизирует зрелые моноциты синтезируя мобилирующие протеазы в КМ, высвобождая ГСК в периферическую кровь, оптимизируя мобилизацию. Рецептор Г-КСФ (CD114) состоит из одной полипептидной цепи, внеклеточная часть которой отвечает за специфическое связывание с лигандом, а внутриклеточная – за формирование и передачу сигналов для обеспечения пролиферации и дифференцировки клеток [61]. После взаимодействия с лигандом рецептора происходит фосфорилирование тирозиновых оснований внутриклеточной части рецептора с помощью тирозинкиназы, что обеспечивает дальнейшую передачу сигнала внутрь клетки и разрыв адгезивных связей ГСК с костномозговыми нишами, и далее происходит процесс высвобождения ГСК в периферическую кровь [105].

Микроокружение ГСК представляет собой систему, состоящую из стромы и межклеточного матрикса, обеспечивающих регулирующее влияние на ГСК [92]. Основная популяция стромальных клеток представлена фибробластами, эндотелиальными клетками, жировыми клетками, а также группой моноцитов-макрофагов [23]. ГСК находятся внутри костно-мозговых ниш и надежно закреплены адгезивными взаимодействиями с клетками стромы, как васкулярной, так и эндостальной [73]. В сосудистой нише ГСК находятся в непосредственной близости с периваскулярными мезенхимальными стволовыми клетками (МСК) и эндотелиальными клетками синусоидов сосудов [159]. В эндостальной нише ГСК контактируют с остеобластами, выстилающими поверхность кости и МСК [135]. Результаты исследований свидетельствуют о том, что пролиферирующие ГСК, поддерживающие нормальный гемопоэз, локализованы преимущественно

в периваскулярных нишах. При этом покоящиеся ГСК, обеспечивающие резерв, находятся в высоко кровоснабжающихся эндотелиальных нишах [134]. 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 $\alpha 4\beta 1$ на ГСК, а Kit-лиганд – с его рецептором c-Kit (CD117), который также экспрессируется на ГСК [26]. Важно также взаимодействие между хемотаксическим фактором стромальных клеток 1 (SDF-1/CXCL12), секретируемым клетками гемопоэтической ниши, и его рецептором CXCR4 на ГСК [130]. Значимыми участниками формирования гемопоэтических ниш являются фагоцитирующие макрофаги CD68⁺ CD169⁺, находящиеся рядом с МСК и остеобластами [100]. 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 ГСК в кровь [14].

1.3 Виды режимов мобилизации гемопоэтических стволовых клеток и их особенности

В настоящее время в клинической практике применяются три основных режима мобилизации ГСК (CD34⁺ клеток): стимуляция ГСК с использованием только ростовых факторов; миелосупрессивная ХТ в рамках основного курса лечения с дальнейшим применением Г-КСФ; использование Г-КСФ совместно с антагонистами CXCR4 [61, 63].

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 лимфомой Ходжкина и неходжкинских лимфом) [25, 79].

Наиболее часто недостаточная эффективность мобилизации наблюдается у больных, получивших большое количество курсов ХТ [108]. Использование циклофосфида в качестве компонента мобилизации приводит к 2-5-кратному повышению эффективности мобилизации и уменьшению количества процедур афереза, необходимых для заготовки CD34+ клеток [132]. Но такой способ мобилизации сопряжен с большим количеством инфекционных осложнений, опасных для пациента. Увеличивается продолжительность госпитализации, что требует дополнительного назначения антибактериальной, сопроводительной терапии и нередко – дополнительных трансфузий компонентов крови [86].

1.4 Антагонисты CXCR4. Механизм действия

Взаимодействие между SDF-1 (стромальный клеточный фактор) 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 [51]. В настоящее время самым часто используемым 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 [3]. Основой плериксафора является молекула AMD3100. Бицикл AMD3100 был разработан после молекулы JM1657, идентифицированный как примесь моноцикла, предназначенная для разработки нового соединения свинца для средств против вируса иммунодефицита человека [136]. Между тем молекула AMD3100 послужила моделью для исследования новых агентов для мобилизации ГСК, нацеленных на рецептор CXCR4, рассматриваемых как потенциальные лекарственные препараты, такие как KRH-163694 и CX071495 [20].

Данные препараты могут быть эффективны в качестве дополнительных агентов для мобилизации ГСК. В клинической практике плериксафор обычно назначают в дозе 240 мкг/кг подкожно вечером накануне первого лейкофереза,

поскольку пиковые значения CD34+ клеток наблюдаются через 10-14 часов после введения [151].

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 [8]. Происходит изменение градиента SDF-1 между костномозговой стромой и кровью, что обеспечивает выход ГСК из КМ. В отличие от Г-КСФ плериксафор не оказывает влияния на остеобласты и эндостальные макрофаги [160]. В связи с разными механизмами действия плериксафора и Г-КСФ при их сочетанном применении наблюдается усиление мобилизующего эффекта [119].

В исследовании II фазы плериксафор в сочетании с Г-КСФ быстро увеличивал содержание циркулирующих CD34+ клеток в крови [137]. В исследовании у больных неходжкинскими лимфомами удалось заготовить в 4,4 (диапазон: 1,1-54,4) раза больше ГСК при использовании схемы «плериксафор + Г-КСФ» по сравнению с «Г-КСФ в монорежиме» [87]. Подобные результаты отмечены и у больных с множественной миеломой: повышение эффективности мобилизации в 3-4 (диапазон: 1,3-10) раза при применении «плериксафор + Г-КСФ». Пациенты с неходжкинскими лимфомами и саркомой Юинга, у которых результаты мобилизации с использованием «Г-КСФ + плериксафор» или плацебо были неудовлетворительными, включались в дополнительное исследование. Им была предложена повторная мобилизация ГСК с использованием схемы «Г-КСФ + плериксафор». В результате применения двух препаратов ГСК были заготовлены у 33 (63%) из 52 пациентов, 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 + плериксафор», после неэффективной ранее мобилизации дает возможность рассматривать в терапевтической практике данную схему стимуляции ГСК как эффективную опцию оптимизации мобилизации [16]. При этом опыт применения плериксафора у детей ограничен. Исследование MOZAIС 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 [117]. На первом этапе исследования были проведены подкожные введения плериксафора детям, при этом не наблюдалось видимого дозозависимого эффекта плериксафора на совокупное увеличение CD34⁺ клеток в периферической крови, а эффективность и безопасность плериксафора в этом исследовании были аналогичны таковым, наблюдаемым у взрослых при всех применяемых режимах дозирования: 160 мкг/кг, 240 мкг/кг, 320 мкг/кг [117]. Поэтому рекомендуемая доза для взрослых 240 мкг/кг, вводимая за 8-12 часов до афереза, была также рекомендована в педиатрической практике [117]. По результатам исследования у 31 из 33 пациентов, которым ранее была проведена неудачная попытка мобилизации с применением Г-КСФ в монорежиме, успешно мобилизовали CD34⁺ клетки в периферическую кровь после применения плериксафора, при этом у 27 больных была достигнута минимальная целевая клеточность трансплантата 2×10^6 кл/кг/л после одной процедуры афереза [117].

1.5 Стимуляция гемопоэза гранулоцитарным колониестимулирующим фактором в онкогематологической практике

В организме Г-КСФ вырабатывается клетками стромы КМ, эндотелиоцитами, макрофагами, эпителиальными клетками тимуса [114]. Г-КСФ обеспечивает созревание и дифференцировку предшественников нейтрофилов, выход зрелых нейтрофилов в периферическую кровь из КМ, а также усиливает функциональную активность зрелых нейтрофилов [5]. Основным препаратом Г-КСФ, используемым в мобилизации ГСК, является филграстим [10, 89].

Мобилизация периферических стволовых клеток у детей с солидными опухолями и гемобластомами начинается, как правило, на 14-й день от начала ХТ. Стартовая доза Г-КСФ составляет 5 мкг/кг для детей весом до 10 кг, и 7-10 мкг/кг для детей весом более 10 кг [4, 31]. На момент первого сеанса афереза пациенты

в среднем получают от 1 до 5 курсов ХТ, что также сказывается на эффективности мобилизации. Г-КСФ вводится подкожно ежедневно в одно и то же время в течение 5-7 дней, последнее введение выполняют непосредственно за 2 часа до афереза с оценкой эффективности мобилизации [75].

Аферез ГСК проводят обычно на 4-6-е сутки после начала мобилизации [55, 106]. В это время наблюдается значительное повышение количества лейкоцитов периферической крови (в 4-10 раз), сопровождающееся увеличением уровня клеток-предшественников гемопоэза (CD34+ клеток) [139]. Критерием оптимальной клеточности трансплантата для ауто-ТГСК в педиатрической практике является количество ядросодержащих клеток, превышающее $4-8 \times 10^8/\text{кг}$, или количество CD34+ клеток, превышающее $5-10 \times 10^6/\text{кг}$ [32, 41, 144].

1.6 Дополнительные способы стимуляции гемопоэза.

Потенциально новые агенты

Достаточно редко в педиатрической практике возникает необходимость в применении новых дополнительных агентов с целью стимуляции гемопоэза. Основными кандидатами на данное лечение являются пациенты, не ответившие на стимуляцию гемопоэза как после первой, так и после второй попытки мобилизации, а также пациенты, получившие перед аферезом более трех курсов ХТ, у которых истощен резерв эндостальной ниши [116]. С целью восстановления костномозговых ниш возможно применение паратгормона, что, согласно теоретической модели, может усиливать эффект от стимуляции гемопоэза за счет усиления обмена костной ткани [30]. Эффективность данной методики пока изучается и не имеет достаточной доказательной базы.

Более активно обсуждается включение в режимы мобилизации ГСК агентов, действующих на TNF-рецепторы [98]. В исследовании группы здоровых доноров почти у всех отмечено низкое количество TNF- α в сыворотке крови, что рассматривается как плохой прогностический признак мобилизации ГСК [33].

Разработка более эффективных схем и стратегий мобилизации ГСК связана с блокировкой сигналов рецептора Notch [88]. Адгезионное взаимодействие Notch-лиганда поддерживает ГСК в костно-мозговых нишах [94]. При использовании антител, блокирующих рецептор Notch, в частности Notch 2, без блокады Notch 1, повышается чувствительность ГСК и предшественников к мобилизационным стимулам и происходит мобилизация ГСК в периферическую кровь [157]. Блокада лиганда Notch 2 приводит к транзиторной экспансии миелоидных предшественников, без влияния на гемостаз и самообновление ГСК. В экспериментальной мышинной модели блокада Notch 2 приводит к снижению экспрессии CXCR4, но увеличению клеточного цикла, при этом транскрипция CXCR4 напрямую регулируется транскрипционным белком Notch RBPJ [19]. Блокировка Notch 2 или его дефицит демонстрируют повышенную адгезию ГСК к эндостальным костномозговым нишам, в то время как мобилизованные стволовые клетки и предшественники с блокировкой Notch 2, но не с дефицитом Notch 2, демонстрируют конкурентное репопуляционное преимущество и улучшают гемопоэтическую реконструкцию [158]. Эти результаты позволяют предположить, что блокирование Notch 2 в сочетании Г-КСФ может еще больше усилить мобилизацию ГСК, улучшить результаты афереза CD34+ клеток и обеспечить приживление трансплантата [95].

1.7 Предикторы недостаточного мобилизационного ответа.

Факторы, способствующие неудовлетворительной стимуляции гемопоэтических стволовых клеток

Определение недостаточной мобилизации (НМ) является предметом обсуждения многих трансплантационных центров, особенно педиатрических, так как проблема недостаточно разработана и освещена как в научном сообществе, так и среди клиницистов. В мировой практике было показано, что есть ряд переменных, отвечающих за эффективность мобилизации ГСК [121]. Согласно данным литературы, большинство педиатрических пациентов в ответ

намобилизацию ГСК достигают целевых значений CD34+ клеток, хотя остается значительная часть детей, которым необходимо проведение повторных режимов стимуляции и повторных процедур афереза ГСК [99].

Планируя стимуляцию ГСК, клиницисты зачастую сталкиваются с рядом неблагоприятных факторов в анамнезе пациента, приводящих к недостаточной мобилизации ГСК [78]. К настоящему времени выделено несколько важных факторов, влияющих на мобилизационную активность: количество проведенных курсов ХТ и их интенсивность в анамнезе; использование алкилирующих агентов; статус болезни в момент подготовки к аферезу ГСК. Пациенты, заболевание которых в стадии стабилизации, имеют заведомо более высокие шансы на удачную мобилизацию, чем пациенты с рецидивом или прогрессией заболевания. ЛТ, особенно с охватом зон, отвечающих за гемопоэз (костный мозг, селезенка, тимус, печень), негативно влияет на выработку цитокинов, необходимых для адекватной мобилизации. Пациент-ассоциированные факторы и особенности течения основного заболевания: возраст пациента, поражение костного мозга и санация его после блока ПХТ; степень восстановления мегакариоцитарного ростка КМ после ПХТ [82].

Наиболее крупное исследование в этом направлении было проведено командой испанских врачей службы онкогематологии во главе с доктором Julian Sevilla (Hospital Infantil Universitario Nino Jesus, Madrid, Spain) с целью определения категории пациентов, которые будут входить в группу НМ [52]. В ретроспективное исследование (с 2000 по 2010 год) было включено 179 пациентов с различными ЗНО, которым проводился режим стимуляции разными дозами Г-КСФ с последующим аферезом ГСК. Для выявления факторов, связанных с НМ, анализировались следующие переменные: возраст, вес, объем обработанной крови, диагноз, статус заболевания, предшествующая ХТ и количество курсов, ЛТ и режим мобилизации. Средний возраст пациентов составил 7 лет (от 6 мес. до 18 лет), а средний вес 23 кг (5-44 кг) [52].

Из общего числа пациентов только 12 не проходили ХТ до мобилизации в рамках первичного лечения. Из тех, кому проводилась ХТ до мобилизации, 78 (43,6%) назначено было шесть или менее курсов ХТ, а 89 (49,7%) – более шести курсов ХТ. Большинству пациентов проводились мобилизации с помощью высоких доз (от 15-20 мкг/кг) Г-КСФ вместо стандартных доз (71,8% против 28,2%).

Медиана числа CD34+ в периферической крови до сбора составляла 40 (2-56) кл/мкл. Большинство пациентов (92,2%) достигли целевой дозы клеток CD34+ клеток, необходимой для проведения ауто-ТГСК. У 26 (14%) пациентов достичь целевых значений не удалось, уровень CD34+ клеток у них был менее 10 кл/мкл, в связи с чем эта группа была выделена как группа НМ и стала основной группой наблюдения. В группе НМ 8 (30,1%) пациентам аферез ГСК не проводился. У остальных 18 пациентов только в двух случаях в результате афереза удалось достичь целевых значений CD34+ клеток (2×10^6 /кг) после одного афереза [52].

Результаты исследования показали, что ЛТ была основной переменной, связанной с плохой мобилизацией ГСК у детей [52]. Также неэффективной чаще бывает мобилизация при применении низких доз Г-КСФ. Поэтому ряду пациентов (в частности перенесшим ЛТ) рекомендуется использование более высоких доз Г-КСФ. При этом у части пациентов в связи с угнетением гемопоэза после большого числа курсов ПХТ не удается достичь целевого уровня CD34+ клеток для начала афереза, несмотря на стартовые высокие дозы Г-КСФ [52, 104].

Поскольку НМ в педиатрии наблюдается не часто, важно четко планировать ее схему, использовать дополнительные агенты у таких пациентов, чтобы избежать нарушения тайминга ХТ основного заболевания [129]. А планирование введения плериксафора возможно только за 24 часа до предполагаемой даты афереза, что тоже сильно усложняет задачу врача.

Использование плериксафора у детей более широко стало возможным только с 2023 года, в связи с регистрацией расширения возрастного ценза применения препарата, ранее составляющего 18 лет и старше [155]. Несмотря на

ряд исследований, в настоящее время нет общепринятого порогового значения циркулирующих клеток CD34+ клеток после мобилизации Г-КСФ для пациентов в группе НМ в педиатрии. При этом у детей, у которых после регулярной мобилизации Г-КСФ, методом ИФТ в периферической крови определяется 10 или более CD34+ клеток в мкл [74].

1.8 Факторы, связанные с анамнезом заболевания, влияющие на мобилизацию и аферез стволовых клеток

1.8.1 Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток в межблоковом периоде терапии злокачественных новообразованиях у детей

В настоящее время факторы, влияющие на успешность мобилизации при ЗНО, условно разделены на две большие группы. К первой группе относят факторы, связанные с предшествующим лечением: многочисленные курсы ХТ с использованием алкилирующих агентов и антиметаболитов (например, мелфалана), предшествующая ЛТ, статус противоопухолевого ответа на момент ауто-ТГСК (ремиссия заболевания, прогрессия или стабилизация опухолевого процесса) [39]. Ко второй группе относятся факторы, связанные с пациентом и особенностями заболевания: поражение костного мозга опухолью, неполное восстановление показателей крови после предшествующей ПХТ, тромбоцитопения [125].

Для пациентов онкогематологического профиля обязательным является соблюдение тайминга терапии [41]. Аферез должен быть внедрен в очень короткий межблоковый период, что на практике может представлять значительную сложность. Важным этапом является восстановление показателей крови, позволяющее в дальнейшем перейти к этапу мобилизации и сбора ГСК [54].

Несмотря на значимый объем накопленной информации о мобилизации и сборе ГСК у детей, до сих пор отсутствует единое мнение об оптимальном

режиме стимуляции гемопоэза перед проведением процедуры афереза, также отсутствует общепризнанная прогностическая шкала, в соответствии с которой можно было бы выделять пациентов с ЗНО, имеющих высокий риск неэффективной мобилизации и афереза [29]. Также общеизвестно, что выполнение не эффективных аферезов, когда не удается получить достаточное для проведения трансплантации количество CD34+ клеток, сопряжено с существенными экономическими затратами, не говоря уже о серьезных рисках для пациентов [107, 152].

В настоящее время отсутствуют данные о сравнительном анализе результатов мобилизации и аферезов периферических ГСК у детей с ЗНО возрастных и весовых групп.

Стволовые клетки-предшественники гемопоэза из КМ или периферической крови используются для восстановления кроветворной функции, которая была существенно подавлена высокими дозами цитостатических препаратов, поскольку основная цель ВДХТ – максимальная редукция остаточной опухолевой массы [97]. В качестве источника стволовых клеток преимущественно применяются ГСК, полученные посредством проведения аппаратного лейкоцитафереза [66]. Главная цель мобилизации состоит в сборе достаточного количества стволовых клеток [47, 150, 162].

1.8.2 Химиотерапия

Ряд исследовательских работ доказывают, что многочисленные курсы ХТ негативно влияют на качество мобилизации ГСК в педиатрической практике, несмотря на высокий гемопоэтический потенциал у детей [126].

Не эффективные показатели афереза ГСК для подготовки клеточного продукта фиксируются у пациентов, получавших в терапевтических курсах мелфалан [42].

При этом использование циклофосфида в качестве компонента мобилизации приводит к 2-5-кратному повышению эффективности мобилизации

и уменьшению количества процедур афереза, необходимых для заготовки субоптимального уровня CD34+ клеток [141]. Но такой способ мобилизации сопряжен с большим числом инфекционных осложнений, в результате чего госпитализация становится более длительной, что требует дополнительного назначения антибактериальной терапии [42, 128].

Принципиально плохим прогностическим критерием для мобилизации ГСК является применение в режимах ХТ алкилирующих агентов (дакарбазин, ифосфамид, карбоплатин), обладающих выраженным миелотоксическим эффектом [71]. У пациентов с лимфомой Ходжкина неблагоприятным фактором является применение бендамустина, представляющего собой химическую молекулу с алкилирующим агентом и пуриновым аналогом в составе, и используемого обычно в комбинации с ритуксимабомю. Данные препараты демонстрируют выраженное токсическое действие на КМ, подавляя мобилизирующий потенциал костномозговых ниш [146].

1.8.3 Лучевая терапия

Ряд протоколов терапии ЗНО включает применение ЛТ с целью достижения лучшего ответа на лечение. Исследовательские работы показывают негативное влияние ЛТ на возможность проведения режима стимуляции ГСК и в дальнейшем – афереза [21].

Так, исследование итальянских ученых, включающее 100 пациентов со ЗНО, имевших в анамнезе ЛТ с вовлечением ряда кроветворных органов, продемонстрировало, что ЛТ ухудшала прогноз сбора достаточного количества стволовых клеток для проведения ауто-ТГСК [133]. Из этой группы больных целевых значений CD34+ смогли достичь только 50 (50%) человек, 14 (14%) пациентам проведен второй сбор клеток, а 36 (36%) пациентам была показана повторная попытка мобилизации [147]. Однако имеются также данные, не подтвердившие негативное влияние ЛТ на эффективность мобилизации [50, 60].

1.8.4 Роль противоопухолевого эффекта в мобилизации и аферезе гемопоэтических стволовых клеток

Проведение противоопухолевой и ЛТ может оказывать значимое влияние на качество мобилизационного ответа [140]. Большое значение имеет статус заболевания: ремиссия (частичная или полная); стабилизация, прогрессия заболевания (рецидив) [112]. Необходимо учитывать, на каком из этапов начато лечение пациента, являлся ли он рефрактерным к проводимой терапии, были ли в анамнезе зафиксированы рецидивы основного заболевания, их количество [17].

Французскими учеными проведено многоцентровое исследование с участием 12 центров, включая педиатрические клиники, для изучения результатов сбора периферических стволовых клеток у 655 пациентов с ЗНО [58]. Целью их исследования было определение прогностических факторов качества трансплантата и оптимизация процедуры сбора в зависимости от стартового статуса больного.

Инициально у 352 пациентов был зафиксирован статус стабилизации заболевания, что указывало на возможность заготовки оптимального числа ГСК в момент сбора. Каждый заготовленный трансплантат был определен как «хороший» клеточный продукт или «плохой» клеточный продукт [138]. В другую группу были включены 353 пациента, которые не смогли достичь на фоне ХТ стабилизации и ремиссии заболевания на момент мобилизации. Это заведомо ухудшало прогноз на удачную мобилизацию, но не имело достаточной доказательной базы для оценки качества мобилизации в периферической крови в день афереза. По результатам исследования среди пациентов выделено две подгруппы с заготовкой оптимального для ТГСК трансплантата и трансплантата более низкого качества. Первая подгруппа пациентов находилась в ремиссии или стабилизации ЗНО, что позволяло достичь лучших ответов на стимуляцию гемопоэза и сбора ГСК за 1 сеанс афереза, во второй подгруппе были проведены повторные попытки стимуляции и повторные сеансы афереза ГСК [58].

Основные результаты продемонстрировали, что с критериями качества сбора ГСК связаны такие параметры, как статус заболевания, рецидив или рефрактерное течение. Зачастую в момент рецидива или прогрессии заболевания метастатически поражен КМ, который не всегда удается полностью санировать даже на интенсивных блоках ПХТ. Однако в результате многомерного анализа выявлено три прогностических фактора, имеющие в комбинации со статусом болезни значение для качества сбора стволовых клеток: уровень циркулирующих клеток CD34+ в периферической крови; количество обработанной крови; количество проведенных процедур афереза [58].

Группа итальянских ученых проанализировала истории болезни 262 пациентов с неходжкинскими лимфомами и лимфомой Ходжкина с рефрактерным течением болезни, 76 из которых в анамнезе имели рецидив основного заболевания [145]. Больше половины из них получили более трех курсов ХТ и входили в группу «плохой мобилизации» [145]. Только у половины пациентов удалось достичь оптимального количества ГСК, остальным пациентам потребовалась более длительная мобилизация (более 6 дней) с эскалированием дозы Г-КСФ до 20 мкг/кг, со включением дополнительных мобилизирующих агентов и повторным проведением афереза [145].

1.8.5 Метастатическое поражение костного мозга

Достаточно часто встречается метастатическое поражение костного мозга у детей с ЗНО, такими как саркома Юинга, нейробластома, нефробластома и герминогенно-клеточные опухоли [122]. Предполагалось, что у этой категории пациентов существует вероятность введения в организм опухолевых клеток, попавших в трансплантат [131]. Однако подобные опасения могли быть оправданы при острых лейкозах, где основной опухолевый объем локализован в костном мозге, но ауто-ТГСК как терапевтическая опция не используется у этих пациентов.

Необходимо учитывать, что поражение костного мозга – нередкое явление у пациентов педиатрической группы с ЗНО, и ВДХТ с последующей аутологичной

трансплантацией является ключевым методом терапии [110]. Ауто-ТГСК показала свою эффективность у пациентов, которые достигли полной ремиссии в период индукции, также у больных с неполной ремиссией, у которых сохранялись признаки активной опухоли. Поражение КМ у пациентов с диагнозами лимфома Ходжкина, нейробластома, саркома Юинга ухудшает прогноз лечения и возможность выполнения качественной мобилизации и сбора ГСК [22].

В настоящее время факторы, влияющие на успешность мобилизации при ЗНО, условно разделены на две большие группы. К первой группе относят факторы, связанные с предшествующим лечением: многочисленные курсы ХТ с использованием алкилирующих агентов и антиметаболитов, предшествующая ЛТ, статус противоопухолевого ответа на момент ауто-ТГСК (ремиссия заболевания, прогрессия или стабилизация опухолевого процесса) [39]. Ко второй группе относятся факторы, связанные с пациентом и особенностями заболевания: поражение КМ опухолью, неполное восстановление показателей крови после предшествующей ПХТ, тромбоцитопения, соматическое состояние, наличие в анамнезе проводимых попыток мобилизации, санация костного мозга перед первой попыткой мобилизации [125].

Несмотря на значимый объем накопленной информации о мобилизации и сборе ГСК у детей, до сих пор отсутствует единое мнение об оптимальном режиме стимуляции гемопоэза перед проведением процедуры афереза, также отсутствует общепризнанная прогностическая шкала, в соответствии с которой можно было бы выделять пациентов с ЗНО, имеющих высокий риск неэффективной мобилизации и коллекции [29]. Также общеизвестно, что выполнение «пустых» аферезов, когда не удается получить достаточное для проведения трансплантации количество CD34+ клеток, сопряжено с существенными экономическими затратами, не говоря уже о серьезных рисках для пациентов [107].

Проведен ряд исследовательских работ, доказывающих высокую эффективность ВДХТ с последующей ауто-ТГСК для ряда нозологий (например, нейробластомы, ретинобластомы, саркомы Юинга, лимфомы Ходжкина и др.), что на порядок повышает успех терапии [152].

В настоящее время отсутствуют данные о сравнительном анализе результатов мобилизации и аферезов периферических ГСК при различных ЗНО у детей разных возрастных и весовых групп.

Стволовые клетки-предшественники гемопоэза из костного мозга или периферической крови используются, главным образом, для восстановления кроветворной функции, которая была существенно подавлена высокими дозами цитостатических препаратов, поскольку основная цель ВДХТ – максимальная редукция остаточной опухолевой массы [97]. В качестве источника стволовых клеток преимущественно применяются ГСК, полученные посредством проведения аппаратного лейкоцитафереза [66]. Главная цель мобилизации состоит в сборе достаточного количества стволовых клеток [47, 150, 162].

1.9 Пациент-ассоциированные факторы, влияющие на режим мобилизации и аферез гемопоэтических стволовых клеток

1.9.1 Мобилизирующий потенциал костного мозга

Группа пациентов детского возраста имеет явное преимущество в мобилизационной активности и сборе ГСК по сравнению с пациентами более старшего возраста за счет большого числа CD34+ клеток в костном мозге и отсутствия значительного замещения жировой тканью [80, 163]. Уже на 5-м месяце эмбриогенеза КМ функционирует как основной кроветворный орган, обеспечивая дифференцированное костномозговое кроветворение с элементами гранулоцитарного, эритроцитарного и мегакариоцитарного ряда [153]. У детей раннего возраста ретикулярная ткань образует строму костного мозга, в петлях которой расположены гемопоэтические элементы [164]. Она представлена межклеточным веществом с характерными ретикулярными волокнами и клетками, среди которых различают малодифференцированные и дифференцированные фибробластоподобные и макрофагальные клетки [90]. Микроокружение ГСК представляет собой систему, состоящую из стромы

и межклеточного матрикса, основная роль которых заключается в осуществлении регулирующих влияний на ГСК [90]. В популяцию стромальных клеток входят фибробласты, эндотелиальные, жировые клетки (меньше у детей, больше у взрослых и пожилых) и группа моноцитов-макрофагов [90]. У детей большое значение в мобилизационной активности имеют периваскулярные МСК, синусоидальные эндотелиальные клетки и остеобласты, экспрессирующие молекулу адгезии, такие как VCAM-1/CD106, и трансмембранный фактор стволовых клеток (Kit-лиганд) [109]. Важным участником формирования гемопоэтических ниш являются фагоцитирующие макрофаги экспрессирующие рецептор 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 связывание с рецептором CXCR4 [48]. При уменьшении количества макрофагов в костном мозге происходит снижение интенсивности экспрессии VCAM-1, SDF-1 и SCF, что приводит к адгезивным взаимодействиям и ГСК [48]. Мобилизационный потенциал снижается по мере взросления организма, что необходимо учитывать [48].

1.9.2 Циркадные ритмы в стимуляции гемопоэтических стволовых клеток

Все виды деятельности живых организмов связаны с циклом бодрствования и сна [36]. Физиологические особенности ГСК с учетом временных суток нашли отражение в реальной клинической практике в виде времени введения мобилизирующих агентов. По данным циркадных ритмов сутки могут быть разделены на три периода. Первый период: с 5 до 13 часов дня, когда преобладает вегетативная нервная система [142]. В этот период усилен обмен веществ, несколько увеличено кровоснабжение органов, в частности костного мозга, что способствует лучшей мобилизации [35]. Второй период: с 13 до 21 часов снижается активность симпатической нервной системы, что приводит к снижению обменных процессов и гормональной активности организма [138]. Под

влиянием симпатических адренергических нервов происходят ритмические колебания в продукции SDF-1 клетками гемопоэтических ниш и экспрессия CXCR4 самими ГСК. Третий период: в утреннее время с 3 до 5 ч наблюдаются минимальные значения экспрессии SDF-1 костномозговыми клетками и CXCR4, именно в это время – пиковые значения циркулирующих ГСК. Так для достижения высокой клеточности в периферической крови Г-КСФ вводится в утренние часы, обеспечивая двухкратное повышение CD34+ клеток в крови и введение антагонистов CXCR4 в вечернее время для пятикратного увеличения числа CD34+ клеток [96].

1.9.3 Тромбоцитопения

Терапия, проводимая на разных этапах лечения солидных и гематологических опухолей, сопровождается выраженной гематологической токсичностью, приводящей к стойкой аплазии кроветворения и выраженной тромбоцитопении [67]. Снижение уровня показателей крови может отсрочить возможность старт мобилизации, что не позволит интегрировать сбор ГСК в межблоковый период [69].

Гематологическими предикторами плохой мобилизации являются показатели крови: начальный уровень тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобина менее 90 г/л, лейкоцитов менее $1,0 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофилов менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$. Не всегда в педиатрической практике возможно достичь полного восстановления гемопоэза для старта мобилизации. Нередко возникает необходимость отказываться от этапа мобилизации ГСК в пользу восстановления показателей крови и продолжения программной терапии [70].

Обсуждая индуцированную тромбоцитопению в период введения филграстима на фоне стимуляции гемопоэза, следует учесть, что тромбоцитопения может сохраняться длительно ввиду истощения костномозгового потенциала в период лечения, особенно ЛТ. Кроме того, тромбоцитопения, возникшая после выполнения мобилизации с использованием

химиопрепаратов или включения в предшествующий блок цитостатиков (циклофосамид, этопозид, цитарабин или их комбинации), достаточно часто может быть сопряжена не только со значительным снижением тромбоцитов, но и с выраженными инфекционными осложнениями. Зачастую снижение уровня тромбоцитов до $30 \times 10^9/\text{л}$ и ниже является основанием для принятия решения об отмене мобилизации из-за риска развития кровотечений [83].

1.10 Стандартная схема мобилизации и процедуры сбора гемопоэтических стволовых клеток у пациентов педиатрического профиля и возможности ее оптимизации

У детей с ЗНО принято начинать стимуляцию гемопоэза по факту достижения полного восстановления гемопоэза [1]. При этом у части пациентов в рамках основного протокола лечения уже проводится стимуляция гранулоцитарного роста с целью профилактики нейтропении и септических состояний [59]. Стандартный режим мобилизации включает введение Г-КСФ. В педиатрической практике мобилизацию начинают со стартовой дозы Г-КСФ 5-10 мкг/кг в сутки, продолжительность введения препарата в среднем 4-7 дней. Последняя доза вводится за 2-4 часа до начала процедуры афереза ГСК [166]. Первый контроль содержания стволовых клеток в крови методом иммунофенотипирования должен быть проведен на 3-й день от начала мобилизации с целью определения процентного и абсолютного значения CD34+ клеток [13]. При достижении целевого значения уровня стволовых клеток более 20 кл/мкл продолжается мобилизация в той же дозировке и назначается день афереза ГСК [7]. Также на этом этапе необходимо учитывать уровень прироста лейкоцитов более $1 \times 10^9/\text{л}$. Если к 3-му дню отмечается низкое число CD34+ (менее 10 кл/мкл) в крови, проводится эскалация дозы Г-КСФ до 20 мкг/кг в сутки с контролем прироста уровня лейкоцитов и стволовых клеток с +4 дня [7]. Если к 4-5-му дню от начала мобилизации уровень стволовых клеток CD34+ в периферической крови не более 15 кл/мкл, то такому пациенту за 12 часов до

предполагаемого времени афереза вводится плериксафор в дозе от 12 до 24 мкг/кг с сохранением эскалированной дозы Г-КСФ [6]. Аферез планируется, как правило, на следующий день после достижения достаточного числа CD34+ клеток в периферической крови.

Аферезы выполняются с применением программы сбора мононуклеаров на различных сепараторах [45, 65]. Наиболее часто в России для детей используются сепараторы «Спектра Оптима» [144]. Для сбора стволовых клеток используются две программы: «сбор мононуклеаров» и «непрерывный сбор мононуклеаров» [45]. Последний вариант выбирается в случае проведения афереза с большим экстракорпоральным контуром сепаратора, что составляет 300 мл и больше подходит детям старшего возраста [113]. Для обеспечения оптимального афереза ГСК автоматические программы сбора учитывают: пол, рост, вес, ОЦК, а также ряд лабораторных показателей (гематокрит, уровень лейкоцитов и тромбоцитов в день афереза) [43, 68, 149]. Для эффективного афереза необходимы оптимальный сосудистый доступ, профилактика развития гиперкоагуляции и цитратных реакций, а также возможность проводить аферез как в автоматическом, так и в ручном режиме.

Сосудистый доступ имеет принципиальное значение для адекватного сбора ГСК [111]. Накануне афереза устанавливается центральный венозный катетер (ЦВК). Сет-система, которая непосредственно подключается к ребенку, имеет два основных канала: канал (линия) для забора и канал (линия) возврата крови [46]. Для сбора ГСК у детей до трех лет рекомендуется постановка магистрального катетера в яремную или бедренную вену [62]. Для пациентов весом до 15 кг предпочтительнее обеспечить двухканальные катетеры типа: Certofix 18/20, катетер типа 5Fr; дети весом более 20 кг могут (ввиду больших поперечных размеров вены) быть кандидатами на постановку доступа типа Certofix 16/16G [38].

Для детей до 3 лет и/или с массой тела менее 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 [55].

Выполнение афереза невозможно без введения антикоагулянтов, которое стандартно включено в программное обеспечение сепаратора. В педиатрии используют цитрат (ACD-A) без комбинаций с гепарином ввиду риска развития геморрагических осложнений [113, 158]. Соотношение между подачей антикоагулянта и цельной крови заложено в программное обеспечение сепаратора, но иногда ввиду развития сгустков и тромбов в линиях сбора, необходимо в ручном режиме прибегать к изменению этих пропорций [55, 57, 121]. Данные манипуляции повышают риск развития цитратных реакций [57, 156]. Предварительно в день афереза каждому пациенту необходимо проведение мониторинга уровня тромбоцитов и коагулограммы (фибриногена) для прогнозирования риска развития гиперкоагуляции и в зависимости от этого контролировать антикоагуляцию и возможность развития цитратных осложнений, связанных со снижением уровня кальция в крови. Для детей раннего возраста цитратные реакции являются серьезным осложнением, особенно ввиду сложности интерпретации жалоб и симптомов, в связи с чем требуется мониторинг витальных функций и лабораторного контроля кислотно-щелочного состава (КЩС) крови [53, 78].

Согласно литературным данным, для эффективного восстановления нейтрофильного ростка после ауто-ТГСК необходима доза CD34+ клеток более 1×10^6 /кг. В большинстве трансплантационных центров доза 2- $2,5 \times 10^6$ /кг считается достаточной, а доза 5- 8×10^6 /кг ускоряет сроки восстановления нейтрофилов и тромбоцитов, дальнейшая эскалация доз результаты не улучшает [31]. Для успешной ауто-ТГСК необходимо собрать 3×10^8 /кг ядросодержащих клеток при условии стандартной мобилизации с использованием только Г-КСФ [64]. Достаточным количеством CD34+ клеток после мобилизации с плериксафором считается 2- 3×10^6 /кг. Если эффективность мобилизации была достаточной, и не возникало никаких технических или клинических препятствий, то для всех пациентов с ЗНО выполняется сбор клеток за одну процедуру афереза [89].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа была выполнена на базе отделения детской трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (директор НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор И.С. Стилиди, директор НИИ ДОиГ им. Л.А. Дурнова – доктор медицинских наук, профессор С.Р. Варфоломеева). Исследование выполнено на основе анализа проспективных данных результатов комплексного обследования и лечения 230 больных детей разных возрастных групп со злокачественными новообразованиями в стадиях I-IV, наблюдавшихся и получавших лечение в НИИ ДОиГ им. Л.А. Дурнова с 2019 по 2023 год. Проанализировано 257 протоколов мобилизации, процедурных листов афереза и выписных эпикризов пациентов НИИ ДОиГ. Двадцати пяти детям (10,8%) из 230 проводился повторный второй аферез. Двум пациентам (0,8%) из 230 провели три процедуры афереза ГСК в рамках 2-х режимов мобилизации.

Всем пациентам, включенным в исследование, проводилась мобилизация гемопоэза и процедура сбора ГСК по утвержденному в НИИ ДОиГ им. Л.А. Дурнова протоколу, основанному на данных исследований, опубликованных в отечественной и мировой литературе. Для решения поставленных в работе задач выполнялся анализ зависимости успеха мобилизации и афереза ГСК от различных факторов и инициальных характеристик пациентов, таких как возраст, пол, вес, соматический и инфекционный статус пациентов, нозология ЗНО, его стадия, ответ на терапию, вид лечения, предлеченность, особенности протокола мобилизации. Учитывая значимость возраста для проведения мобилизации и афереза ГСК, проводился анализ их особенностей в разных возрастных группах. На основании полученных данных разрабатывался алгоритм создания индивидуализированного протокола мобилизации и сбора ГСК у детей с ЗНО с целью их оптимизации и повышения эффективности.

2.1 Критерии включения пациентов в исследование

1. Возраст пациентов от 0 до 216 мес. (18 лет).
2. Наличие подтвержденного ЗНО, в рамках протокола лечения которого необходимо проведение ауто-ТГСК.
3. Согласие родителя или опекуна и/или пациента, достигшего 14 лет, на проведение мобилизации и афереза ГСК.

2.2 Инициальные характеристики и стратификация пациентов на группы в зависимости от факторов, влияющих на эффективность мобилизации и афереза гемопоэтических стволовых клеток

В исследование включено 230 детей – 117 (50,9%) мальчиков и 113 (49,1%) девочек возрастом 3-215 мес. (средний возраст $88,6 \pm 62,1$ мес., медиана 60,0 [36; 144] месяцев).

Пациенты были распределены на шесть возрастных групп: до 1 года; от 1 года до 3 лет; от 3 до 6 лет; от 6 до 10 лет; от 10 до 15 лет; от 15 до 18 лет.

В первую группу детей до 1 года были включены 5 пациентов возрастом 3-12 мес. (2,2% от общего числа наблюдаемых), в группу 1-3 лет – 67 пациентов от 12 до 36 мес. (29,1% от общего числа наблюдаемых), в группу от 3 до 6 лет вошли 48 пациентов от 36 до 72 мес. (20,9% от общего числа наблюдаемых), в группу 6-10 лет – 37 пациентов от 72 до 120 мес. (16,1% от общего числа наблюдаемых), от 10 до 15 лет – 50 пациентов от 120 до 180 мес. (21,7% от общего числа наблюдаемых) и в группу от 15 до 18 лет – 23 пациента от 180 до 216 мес. (10,0% от общего числа наблюдаемых).

Распределение по весу было на три группы. Дети весом меньше или равным 10 кг – 21 ребенок (9,1%), дети весом 10-15 кг – 64 ребенка (27,8%), дети весом более 15 кг – 145 (63,1%) от всей группы исследуемых пациентов.

Распределение пациентов по диагнозам проводилось следующим образом: эмбриональные нейrogenные опухоли – 81 пациентов (38,1%), эмбриональные

опухоли почек – 13 пациентов (5,1%), опухоли ЦНС – 10 пациентов (3,9%), саркомы (костей и мягких тканей) – 61 пациент (27%), лимфомы – 17 пациентов (6,6%), герминогенно-клеточная опухоль – 21 пациент (8,8%), рабдоидная опухоль – 17 (6,6%), другие – 10 (3,9%) пациентов. Дополнительное разделение пациентов на диагнозы показано в таблице 1.

Таблица 1 – Нозологическая структура злокачественных новообразований в исследуемой когорте пациентов

Группа опухолей	N (%)	Диагноз	N (%)
Эмбриональные опухоли	81 (38,1%)	Нейробластома	69 (27,8%)
		Ганглионейробластома	3 (1,3%)
		Ретинобластома	9 (3,9%)
Эмбриональные опухоли почек	13 (5,1%)	Нефробластома	13 (5,1%)
Опухоли ЦНС	10 (3,9%)	Медуллобластома	5 (2,0%)
		Пинеобластома	2 (0,7%)
		Анапластическая эпендимома	1 (0,4%)
		Эмбриональная опухоль ЦНС	1 (0,4%)
		Диффузная лептоменингеальная глионейрональная опухоль	1 (0,4%)
Саркомы (костей и мягких тканей)	61 (27%)	Саркома Юинга	57 (25,3%)
		Саркомы мягких тканей	1 (0,4%)
		Светлоклеточная саркома почки	1 (0,4%)
		Низкодифференцированная крупноклеточная саркома	2 (0,9%)
Лимфомы	17 (6,6%)	Лимфома Ходжкина	14 (5,3%)
		Неходжкинские лимфомы	3 (1,3%)
ГКО + АТРО	21 (8,8%)	Герминогенно-клеточная опухоль	20 (8,4%)
		АТРО	1 (0,4%)
Рабдоидные опухоли	17 (6,6%)	Рабдомиосаркома	14 (5,3%)
		Рабдоидная опухоль носоглотки; параменингеальной локации	3 (1,3%)
Другие опухоли	10 (3,9%)	Нерабдоидная опухоль	1 (0,4%)
		Опухоль из клеток Сертоли и Лейдига	2 (0,7%)

Другие опухоли	10 (3,9%)	Незрелая тератома	1 (0,4%)
		Параглиома забрюшинного пространства	1 (0,4%)
		Сиалобластома тканей	1 (0,4%)
		Назофарингиальный лимфо-эпителиоподобный рак	1 (0,4%)
		Опухоль желточного мешка	1 (0,4%)
		Нейропульмональная бластома	1 (0,4%)
		Параменингеальная назофарингеальная карцинома	1 (0,4%)

2.3 Курсы химиотерапии при лечении основного заболевания

В период подготовки к аферезу ГСК важно иметь данные по составу блока ХТ перед процедурой афереза и его длительности, для определения оптимальных сроков с восстановления гемопоэза. В Приложении А представлены таблицы с основными нозологиями, исследуемыми в работе, химиотерапевтические препараты и их комбинации, а также схемы и дозы в зависимости от возраста, используемые в терапии ЗНО в НИИ ДОиГ им. Л.А. Дурнова НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. В рамках данной исследовательской работы выделен ряд препаратов, которые наиболее часто встречаются в терапевтических курсах и влияют на качество мобилизационного ответа, как в положительную, так и в отрицательную сторону. К ним относятся: циклофосфамид, доксорубин, ифосфамид, флубарабин, карбоплатин, винкристин, топотекан, дакарбазин, цисплатин, метотрексат, темозоломид и бендамустин. В Приложении А представлены 14 таблиц, каждая из которых содержит информацию о ХТ одного или группы заболеваний.

Представленные в Приложении А данные имеют значение в период мониторинга показателей общего анализа крови с целью контроля восстановления ростков кроветворения. Зная дату старта и окончания курса ХТ, можно спрогнозировать, в какой срок возможно будет начать мобилизацию ГСК.

2.4. Разделение пациентов на группы в зависимости от предшествующего лечения

В соответствии с целью и задачами работы, также для адекватности статистического анализа дети с ЗНО были поделены на следующие группы в зависимости от стартовых критериев мобилизации:

1. Пациенты, получившие не более трех курсов ПХТ, без хирургического вмешательства и ЛТ, с мобилизацией на фоне восстановленного гемопоэза и сбора оптимального числа CD34+ клеток n=48 (18,92%).

2. Пациенты, получившие более трех курсов ПХТ, без хирургического вмешательства и ЛТ, с мобилизацией на фоне восстановленного гемопоэза и сбора оптимального числа CD34+ клеток n=29 (11,28%).

3. Пациенты, получившие не более трех курсов ПХТ в рамках протокола, без хирургического вмешательства и ЛТ, с мобилизацией без восстановления гемопоэза n=26 (10,1%).

4. Пациенты, получавшие не более трех курсов ПХТ с хирургическим вмешательством без проведения ЛТ, с мобилизацией на фоне восстановления кроветворения n=104 (40,4%).

5. Пациенты, получавшие более трех курсов ПХТ с проведением хирургического вмешательства и ЛТ, с мобилизацией на фоне нестабильного кроветворения n=45 (17,5%).

6. Пациенты со стартом мобилизации ГСК без предварительного противоопухолевого лечения n=5 (1,8%).

Были также выделены дополнительные группы, которым проводился аферез с особенностями стартовых показателей ОАК и ИФТ после мобилизации ГСК:

1. Группа пациентов с высоким уровнем лейкоцитов и низким (менее 10 к/мкл) или нулевым уровнем CD34+ клеток в периферической крови в день афереза.

2. Группа пациентов с низким уровнем лейкоцитов и высоким уровнем CD34+ клеток в периферической крови в день афереза.

3. Группа пациентов с длительной мобилизацией на стандартных дозах Г-КСФ без прироста уровня лейкоцитов и CD34+ клеток к контрольным дням, с последующей эскалацией дозы Г-КСФ и продолжением мобилизации.

Ключевым критерием качественного мобилизационного ответа является заготовка за одну процедуру афереза субоптимального уровня CD34+ клеток в трансплантате 2×10^6 /кг массы тела при однократной трансплантации и 4×10^6 /кг массы тела ребенка при тандемной трансплантации.

2.5 Методы лабораторного и инструментального обследования пациентов перед мобилизацией, аферезом и после сбора гемопоэтических стволовых клеток

Перед процедурой сбора ГСК проводился скрининг лабораторных показателей после окончания курса ХТ в целях обеспечения безопасной мобилизации и сбора ГСК:

1. Показатели ОАК с целью верификации тромбоцитопении, анемии и лейкопении. Мониторинг показателей крови на предмет восстановления каждого из ростков кроветворения после курса ХТ. Обязательный мониторинг показателей ОАК после процедуры афереза ГСК.

2. Коагулограмма с контролем уровня фибриногена. При наличии в анамнезе заболевания склонности к тромбообразованию необходимо наличие тромбоэластограммы.

3. Кислотно-щелочной состав крови (КЩС) в процессе афереза ГСК и после окончания процедуры сбора. Особенно важно у пациентов до 3-х лет и у детей с электролитными нарушениями

4. Показатели биохимического анализа крови с целью выявления отклонений и контроля провоспалительных маркеров при наличии инфекционных очагов.

5. В период мобилизации ГСК исследование периферической крови методом проточной цитометрии на определение уровня CD34+ клеток с 3-го дня стимуляции (данный контроль может проводиться раньше), и повторение этого анализа до достижения необходимого уровня ГСК в периферической крови.

6. Консультация врача анестезиолога-реаниматолога перед постановкой ЦВК.
7. Проведение ЭКГ-исследования и консультация врача-кардиолога перед процедурой афереза ГСК.
8. Проведение УЗИ-исследования вен, шеи и ног на предмет оценки диаметров вен и выбора локации для постановки центрального венозного доступа.
9. Обязательное согласие законного опекуна на процедуру мобилизации и афереза ГСК. Отдельное согласие на проведение анестезиологического пособия.

2.6 Алгоритмы стимуляции гемопоэтических стволовых клеток у детей со злокачественными новообразованиями

Стимуляция ГСК планомерно проводилась как на фоне восстановления гемопоэза, так и без его достижения. В качестве стимулирующих агентов в рамках данного исследования использовались следующие торговые марки препаратов с действующим веществом филграстим: Нейпомакс, Фармстандарт-УфаВИТА, Россия; Лейкостим, ЗАО «Биокад», Россия; SANDOZ, d.d., Словения; ООО «ФАРМАПАРК», Россия.

Для формирования алгоритмов индивидуальных протоколов во внимание принимались следующие факторы: диагноз пациента, количество планируемых ТГСК (одна или тандемная), количество курсов ХТ до мобилизации стволовых клеток, антропометрические показатели пациентов, тайминг (сроки старта следующего курса ПХТ). При наличии полностью восстановленного гемопоэза стартовой дозой филграстима является 10 мкг/кг, но если у ребенка не зафиксировано восстановление лейкоцитарного ростка, то стартовые дозы могут быть в интервале 5-20 мкг/кг.

2.7 Технические особенности сбора стволовых клеток крови у детей

Перед началом процедуры необходимо подготовить следующее оборудование и расходные материалы:

- сепаратор «Спектра Оптика»;
- комплект магистралей к сепаратору «Спектра Оптика» в зависимости от программы процедуры: сбор мононуклеаров на 10120 сет-системе (СС) с наличием камеры внутреннего заполнения (Рисунок 1) и непрерывный сбор мононуклеаров 10310 СС без камеры внутреннего заполнения (Рисунок 2);
- стандартный (предназначен для 10120-СС) или IDL (предназначен для 10310-СС) контур внутренней части центрифуги для обеспечения центробежного ускорения прибора;
- физиологический раствор;
- АСД-А (антикоагулянт на основе цитрата декстрозы, формула А);
- материалы для дезинфекции, аспирации и подключения устройства.

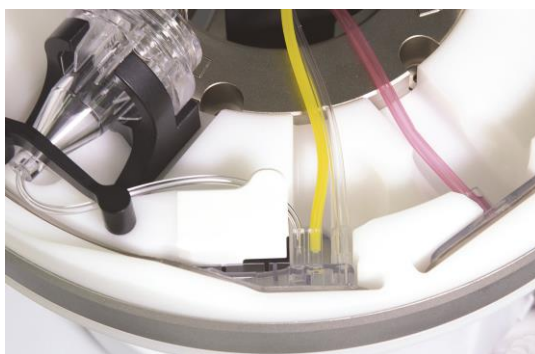


Рисунок 1 – Комплект магистралей 10120-сет системы с наличием камеры внутреннего сбора предназначенный для программного сбора мононуклеаров (*Manual Terumo BCT*)

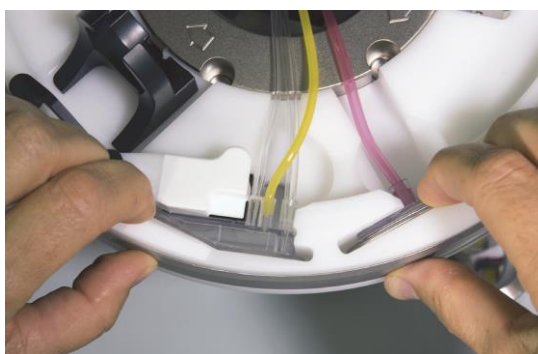


Рисунок 2 – Комплект магистралей 10310-сет-системы, предназначенный для программного непрерывного сбора мононуклеаров (*Manual Terumo BCT*)

Аферез гемопозитических стволовых клеток

В данном клиническом исследовании сепаратором для афереза клеточного продукта является «Спектра Оптия» (Terumo BCT Inc., Lakewood, Colorado, USA), позволяющий проводить аферезы детям разных возрастов. Важно понимать, что в технические опции прибора входит функция экстракорпорального заполнения донорской эритроцитной взвесью, позволившая проведение афереза у детей с низкой (менее 15 кг) и экстремально низкой (менее 10 кг) массой тела, что обеспечивало безопасность в вопросе профилактики гиповолемических осложнений у детей. В качестве СС использовались два основных вида:

- СС «Спектра Оптия» аферезная система 10310 – предназначена для программного непрерывного сбора моноклеаров, имеет объем экстракорпорального контура 253 мл. Опционально применялась для детей старше 3-5 лет, с весом более 20 кг n=131 (50,9%).
- СС «Спектра Оптия» аферезная система 10120 – предназначена для программного прерывного (камерного) сбора моноклеаров, имеет объем экстракорпорального контура 147 мл. Опционально применялась для детей младшего возраста, с весом менее 15 кг n=126 (49,1%).

Программное обеспечение

Аферезы ГСК проводились по протоколам программы сбора моноклеаров и непрерывного сбора моноклеаров «Спектра Оптия», программного обеспечения версии 6, 9 и 11 (Terumo BCT Inc., USA). Сборы проводились как с участием оператора в режиме «Полуавтомат», так и в абсолютно автоматическом режиме «Автомат». У ряда пациентов происходит объединение двух режимов в цикле одной процедуры, в момент когда становится невозможным выполнение сбора ГСК с автоматическом режиме, необходим переход в мануальный. Чаще всего это сопряжено или с развитием гиперкоагуляции, или низким (менее 10×10^6 кл/мкл в периферической крови) уровнем CD34+ клеток.

Выбор и выполнение процедуры заполнения экстракорпорального контура сепаратора

Система выдаст запрос на ввод данных индивидуального заполнения после заполнения комплекта магистралей и до того, как подсоединится пациент. Для выбора процедуры заполнения экстракорпорального контура есть два способа. Этот этап проводится для всех пациентов с весом менее 15 кг и включает в себя проведение биологической пробы накануне афереза ГСК.

Постановка центрального доступа

Процедура афереза ГСК назначалась в день достижения оптимального числа стволовых клеток более 20×10^6 кл/мкл при стимуляции или неоптимального числа менее 10-15 кл/мкл при стимуляции группы недостаточной мобилизации.

Перед сбором стволовых клеток осуществлялась постановка ЦВК. Катетеризация проводилась с УЗИ-исследованием сосудов шеи и нижних конечностей, с целью выбора оптимальной локализации доступа:

- бедренный доступ двухканальный ЦВК типа: Certofix. С размерами 16/16G; 18/20G; 14/14G n=136 (56,5%);
- бедренный доступ одноканальный ЦВК типа: Certofix. С размерами 16G; 18G n=60 (28,8%);
- яремный доступ двухканальный ЦВК типа: Certofix. С размерами 16/16G; 18/20G; 14/14G n=30 (13,0%);
- яремный доступ одноканальный ЦВК типа: Certofix. С размерами 16G; 18G n=4 (1,7%).

Выбор типа катетера и локализация зависит от возраста ребенка, его веса, внутреннего диаметра сосуда, наличия или отсутствия дополнительно катетера. Прицельной постановки трехканального ЦВК никому из детей не проводилось.

Процедура сбора гемопоэтических стволовых клеток

Все пациенты начинали процедуру сбора ГСК в автоматическом режиме сепарации клеток, кроме пациентов, которые однозначно имели предпосылки

к полуавтоматическому режиму работы $n=8$ (3,4%). В зависимости от вида СС имеется две группы вводимых сведений о пациенте:

- СС-10120: рост (см); вес (кг); ОЦК (автоматически рассчитывается с 25 кг, до этого показателя расчет проводится самостоятельно оператором); уровень лейкоцитов в день афереза ($10^9/л$); процент гематокрита крови (%) и число тромбоцитов ($10^9/л$). Такого типа система была использована у $n=126$ (49,1%).

- СС-10310: рост (см); вес (кг); ОЦК (автоматически рассчитывается с 25 кг, до этого показателя расчет проводится самостоятельно оператором) и процент гематокрита крови (%). Такого типа система была использована у $n=131$ (50,9%).

Параметры инициальной скорости забора крови (мл/мин), скорости потока плазмы (мл/минуту), скорости сбора клеток в камеру (СС:10120) или мешок сбора (СС:10310) мл/мин, скорость подачи антикоагулянта в линии системы (мл/мин) рассчитывались математическими логарифмами программного обеспечения, заложенными при выборе процедуры и СС.

Применение антикоагулянтов

В качестве антикоагулянта при проведении всех аферезов был использован цитрат декстрозы (АСД-А цитрат натрия 4%), связывающий катионы Ca^{2+} (IV плазменный фактор) анионами цитрата. Цитрат натрия поддерживает буферную систему крови и улучшает кислородно-транспортную функцию эритроцитов, но при связывании кальция повышается риск развития цитратной реакции, что прописано в ряде литературных источников [84]. С целью оценки безопасности данного процесса нами проводилась оценка взаимосвязи между следующими критериями: скорости перфузии крови (мл/мин), скорости (мл/мин) потока АСД-А и его соотношение к цельной крови, объем АСД-А, полученный пациентом за процедуру афереза (мл).

Эти критерии важны в ключе развития гиперкоагуляции во время сбора ГСК. Факт гиперкоагуляции определялся двумя основными способами: внутри

центрифуги прибора, через стробоскоп (Рисунок 3), определяется наличие конгломератов, представленных фибриновыми или тромботическими массами (Рисунок 4).

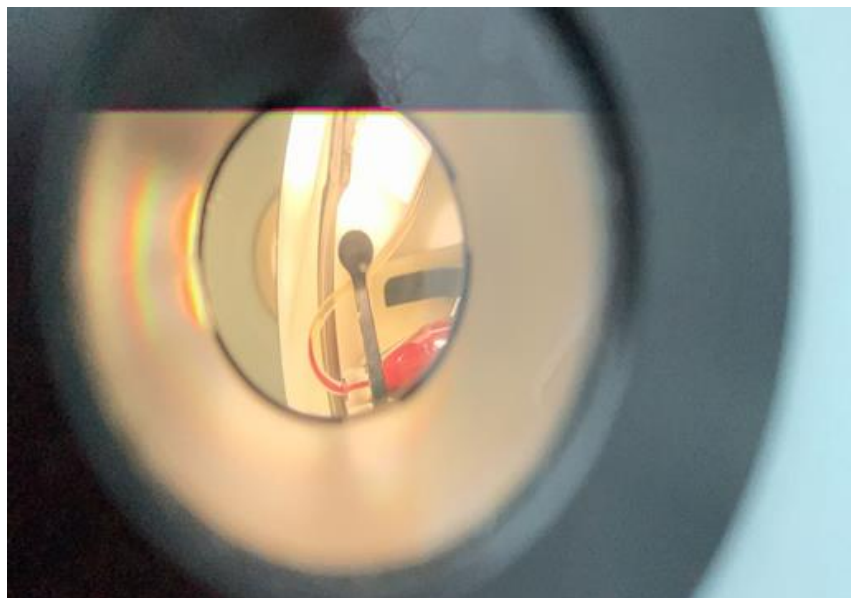


Рисунок 3 – Стробоскоп прибора с просветом канала сбора (фото Степанян Н.Г.)

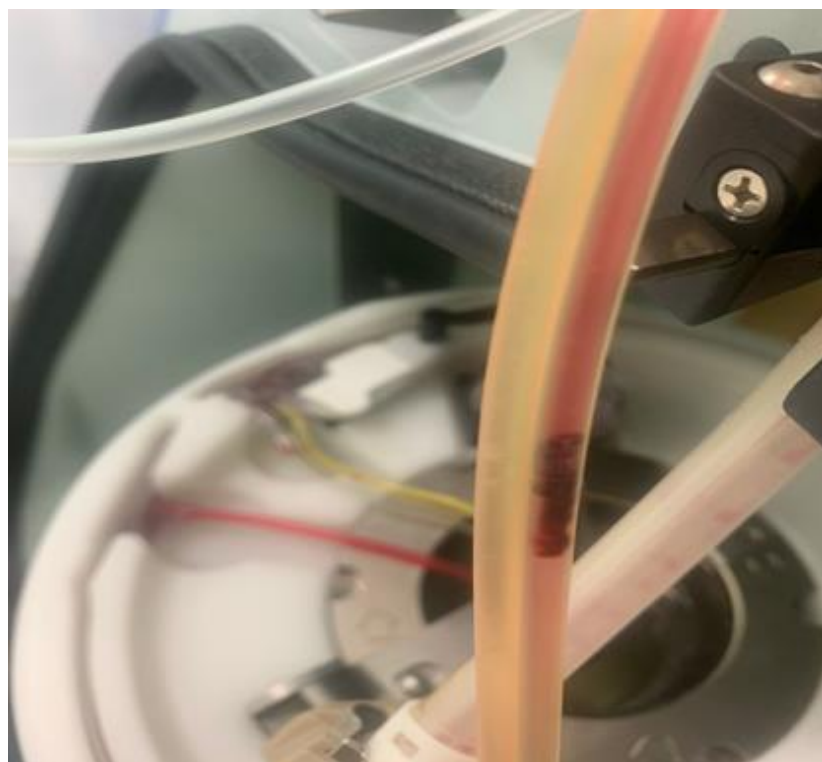


Рисунок 4 – Тромботические массы в линии забора блокируют поток крови от пациента в прибор (фото Степанян Н.Г.)

Второй способ оценки гиперкоагуляции возможен при просмотре экрана прибора и идентификации отсутствия стабилизации на технической границе сбора (технический критерий) эритроцитов, что свидетельствует о сложности проникновения мононуклеаров через линии сбора как в промежуточную камеру, так и в мешок сбора продукта афереза в зависимости от выбранной СС (Рисунок 5). Почти всегда, сталкиваясь с такой ситуацией, оператор менял соотношение между АСД-А и цельной кровью, что вызывало изменения как в цикле длительности процесса, так и в объеме обработки ОЦК, что необходимо для безопасного распределения антикоагулянта и соблюдения протокола процедуры.



Рисунок 5 – Идентификация отсутствия стабилизации на технической границе сбора мононуклеаров (программа непрерывного сбора, фото Степанян Н.Г.)

Длительность и количество обработанных объемов циркулирующей крови

В инициальные настройки сепаратора «Спектра Оптима» заложена стандартная обработка двух ОЦК, что не всегда является необходимым числом.

В нашем исследовании были пациенты, требующие как обработки более 2,0 ОЦК, так и те, кому достаточно было обработать 1,0 ОЦК. Объем обработки напрямую зависит от исходного уровня CD34+ клеток в периферической крови, от веса пациента и метода последующей клеточной терапии (одна или две ауто-ГСК).

Продолжительность афереза зависит напрямую от скорости забора крови, соотношения АСД-А к цельной крови. В зависимости от изменений этих показателей менялось время процедуры, как в сторону его увеличения, так и уменьшения. Принимая эти критерии во внимание, мы определили группы по обработанным ОЦК у пациентов и коррелировали их с длительностью процедуры.

- 1 группа – обработано 2,0 ОЦК – n=75 (32,6%);
- 2 группа – обработано 2,1-3,0 ОЦК – n=78 (33,9%);
- 3 группа – обработавшие 3,1-5 ОЦК – n=15 (6,6%);
- 4 группа – обработавшие 1,1-1,9 ОЦК – n=52 (22,6%);
- 5 группа – обработавшие менее 1,1 ОЦК – n=10 (4,3%).

При проведении афереза ГСК первоначально осуществлялся выбор системы 10120 СС и 10310 СС. Различия между ними в том, что контур 10120 СС – 147 мл объема внутренней части центрифуги (рекомендуемый объем компонента для заполнения контура – 200 мл крови), в 10310 СС – 253 мл (рекомендуемый объем компонента для заполнения контура – 300 мл крови). В 10120 СС есть ограничения по скорости забора. Стартовая минимальная скорость от 10 мл/мин, в отличие от 10310 СС, где этих ограничений нет. Режимы сбора ГСК определяются как автоматический (полностью выполняется прибором), так и полуавтоматический (частичное участие оператора). В технических особенностях важным параметром является скорость забора крови от пациента (как на старте процедуры, так и в конце), так как от этого зависит длительность процедуры. Далее соотношение концентрации АСД-А к цельной крови, которое стандартно заложено в систему и составляет 12:1 (12 объемов цельной крови к одному объему АСД-А). При гиперкоагуляции переходят к увеличению концентрации АСД-А: 10:1, 8:1, 6:1. В редких случаях, когда аферез выполняется пациентам с весом менее 15 кг и риск развития гиперкоагуляции небольшой, стартовым

показателем соотношения может быть 15:1, что скорее исключение. От соотношений зависят скорости забора цельной крови, скорости подачи антикоагулянта в линию забора и скорость подачи антикоагулянта в линию возврата пациента. В норме, при увеличении соотношения АСД-А и крови, снижается скорость забора крови от пациента и перераспределяется скорость антикоагулянта в линию, поступающую пациенту. Но в процессе выполнения аферезов было отмечено, увеличение вероятности развития гиперкоагуляции гиперкоагуляции скорее при снижении скоростей забора. Для ряда пациентов сохранялись инициальные скорости забора, при этом осложнений, в виде цитратной интоксикации отмечено не было.

Иммунофенотипирование и CD34+ клеток до и после афереза

Для определения количества CD34+ клеток в периферической крови в период мобилизации и в образцах лейкоконцентрата был использован используется протокол ISHAGE (International Society of Hemotherapy and Graft Engineering). Результат представлялся как в процентном, так и в абсолютном значении. Количество ГСК определялось по экспрессии мембранных маркеров CD34 и CD45 в реакции прямой иммунофлуоресценции. При различных результатах ИФТ мы получили разные варианты сбора стволовых клеток. Нами фиксировались сборы как с достаточным $n=208$ (80,9%), так и с малым количеством ГСК $n=49$ (19,0%). 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 ядродержащих клеток с использованием нуклеотропного красителя Syto 16.

Статистический анализ

Обработка и расчеты показателей проведены с использованием статистического пакета программ Statistica for Windows v.10 и SPSS v21. Для количественных показателей оценивался вид распределения с помощью критерия

Колмогорова – Смирнова (нормальное распределение при $p > 0,05$). Достоверность различий между количественными показателями вычисляли по критерию t Стьюдента для нормально распределенных величин или по непараметрическому критерию Манна–Уитни (сравнение независимых групп) и критерию Вилкоксона (сравнение зависимых групп). Для сравнения частоты распределения качественных параметров применяли точный критерий Фишера и хи-квадрат (с поправкой Йетса при группе менее пяти случаев).

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Оптимизация методов мобилизации и афереза гемопоэтических стволовых клеток

В исследование включены данные о 257 проведенных режимов мобилизации у 230 пациентов в период с 2019 по 2023 год. Первоначально проведен многофакторный регрессионный анализ. В качестве прогнозируемого параметра рассматривали успешность режима мобилизации, которая оценивалась по количеству CD34+ клеток в периферической крови в день афереза и равнялась 20×10^6 кл/мкл.

Факторы, влияющие на успешность мобилизации, выявляли методом биномиальной логистической регрессии. Проводился одно-и многофакторный регрессионный анализ.

Частота успешных мобилизаций в зависимости от рассматриваемых факторов. В таблице 2 представлены данные однофакторного регрессионного анализа.

Таблица 2 – Пациент-ассоциированные факторы, связанные с анамнезом и терапией злокачественных новообразований, влияющие на эффективность мобилизации

Показатель	Частота успешной мобилизации		р	Число мобилизаций
	абс.	%		
Пол:				
Мужской	98	75,4	0,914	130
Женский	95	74,8		127
Возраст				
До 1 года	5	83,3	0,004	6
От 1 до 3 лет	61	87,1		70
От 3 до 6 лет	43	82,7		52
От 6 до 10 лет	32	74,4		43

От 10 до 15 лет	35	60,3		58
От 15 до 18 лет	17	60,7		28
Вес				
≤10 кг	21	91,3	0,069	23
10-15 кг	54	79,4		68
>15 кг	118	71,1		166
Диагноз:				
Эмбриональные нейрогенные опухоли	81	82,7	0,119	
Нейробластома	71	83,5		85
Ретинобластома	7	70,0		10
Ганглионейробластома	3	100		3
Герминогенно-клеточная опухоль	17	85,0		20
Атипичная тератоидно-рабдоидная опухоль	1	100		1
Эмбриональные опухоли почек (нефробластома)	11	84,6		13
Опухоли центральной нервной системы (ЦНС)	9	90,0		10
Медуллобластома	4	80,0		5
Пинеобластома	2	100		2
Анапластическая эпендимома	1	100		1
Эмбриональная опухоль ЦНС	1	100		1
Диффузная лептоменингеальная глионейрональная опухоль	1	100		1
Саркомы (костей и мягких тканей)	42	59,2		71
Саркома Юинга	40	60,6		66
Саркомы мягких тканей	1	50,0		2
Низкодифференцированная крупноклеточная саркома	1	50,0		2
Светлоклеточная саркома почки	0	0		1
Лимфомы	15	88,2		17
Лимфома Ходжкина	12	92,3		13
Неходжкинские лимфомы	3	75,0		4
Рабдоидные опухоли	10	58,8		17
Рабдомиосаркома	8	57,1		14
Рабдоидная опухоль носоглотки параменингеальной локации	2	66,7	3	

Продолжение таблицы 2

Рабдоидные опухоли	10	58,8		17
Рабдомиосаркома	8	57,1		14
Рабдоидная опухоль носоглотки параменингеальной локации	2	66,7		3
Другие опухоли	7	70,0		10
Опухоль из клеток Сертоли и Лейдига	0	0		2
Нерабдоидная опухоль	1	100		1
Незрелая тератома	1	100		1
Параглиома забрюшинного пространства	1	100		1
Сиалобластома тканей	1	100		1
Назофарингиальный лимфо- эпителиоподобный рак	0	0		1
Опухоль желточного мешка	1	100		1
Нейропульмональная бластома	1	100		1
Параменингеальная назофарингеальная карцинома	1	100		1
Стадия ЗНО				
I	3	60,0	0,014	5
II	27	60,0		45
III	35	89,7		39
IV	128	76,2		168
Поражение костного мозга				
нет	140	74,5	0,700	188
есть	53	76,8		69
Предшествующая ХТ (3 и более курсов):				
нет	59	89,4	0,002	66
да	134	70,2		191
Лучевая терапия				
нет	161	80,1	0,0004	201
да	32	57,1		56
Лечение до				
нет	75	85,2	0,002	88
операция	86	76,1		113
лучевая терапия	9	52,9		17
Операция + лучевая терапия	23	59,0		39
Эффект лечения				
полная регрессия	4	66,7	0,116	6
частичная регрессия	24	66,7		36

стабилизация	160	78,1		205
прогрессирование	5	50,0		10
Восстановление				
нет	15	57,7	0,030	26
да	178	77,1		231
Инфекции				
нет	180	75,3	0,770	239
да	13	72,2		18
Режим мобилизации				
ГСК в монорежиме	57	67,1	0,004	85
ГСК +циклофосфамид	116	83,5		139
ГСК +плериксафор	7	50,0		14
ГСК +циклофосфамид+плериксафор	13	68,4		19
Использование плериксофора				
нет	173	77,2	0,039	224
да	2	60,6		33
При дозе плериксофора				
0,12 мкг/кг	12	52,2	0,028	23
0,24 мкг/кг	8	80,0		10
Момент старта				
старт мобилизации после 2-3 планового курса ПХТ в рамках протокола терапии с восстановлением гемопоэза	45	93,8	0,004	48
после 4 и более курсов ПХТ с восстановлением гемопоэза	22	75,9		29
после 2-3 планового курса ПХТ без восстановления гемопоэза	15	57,7		26
после оперативного вмешательства	79	76,0		104
после лучевой терапии	28	62,2		45
до лечения	4	80,0		5
Стартовая доза Г-КСФ для мобилизации				
5	1	50,0	0,519	2
10	182	75,8		240
20	10	66,7		15
Эскалация дозы				
не было	151	79,5	0,022	190
была	32	61,5		52
исходно эскалированная	10	66,7		15

Старт мобилизации				
ранний	1	100	0,580	1
средний	30	69,8		43
поздний	162	76,1		213
Число токсичных препаратов				
нет	1	33,3	0,030	3
1	70	83,3		84
2	68	77,3		88
3	42	63,6		66
4	12	75,0		16
Ответ на мобилизацию, день				
нет	10	90,9	0,038	11
2-4 сут.	81	78,6		103
5 сут.	59	77,6		76
6-9 сут..	40	67,8		59
>10 сут.	3	37,5		8

Исходя из данных таблицы 2, существенное влияние на частоту успешных мобилизаций из рассматриваемых факторов оказывали:

- возрастная группа. У детей младших возрастных групп $n=66$ (пациенты группы до 1 года и пациенты группы от 1-3 лет) мобилизация проходит успешнее за счет выраженного гемопоэтического потенциала костного мозга ($p=0,004$);
- стадия заболевания. Худшие результаты получены при подтвержденной I или II стадии ЗНО, однако это может быть связано с тем, что 90% (45/50) детей ранее получили три и более курсов полихимиотерапии в отличие от пациентов с IV стадией заболевания, которые на момент старта мобилизации получали в среднем не более трех курсов химиотерапии ($p=0,014$);
- предшествующая ХТ. Проведение трех и более курсов химиотерапии в анамнезе, а также наличие лучевой терапии значимо снижали частоту успешных мобилизаций ($p=0,002$ и $p=0,0004$ соответственно);
- факт восстановления гемопоэза после терапии также повышал шансы на успешную мобилизацию ($p=0,030$);

- влияние момента старта, учитывающего наличие в анамнезе более 3-х курсов ХТ пациентов и восстановление их гемопоэза, подтверждает получение лучших результатов у пациентов до или в начале проведения курсов химиотерапии / лучевой терапии на фоне восстановления гемопоэза ($p=0,002$);

- лучшие результаты у пациентов без эскалации дозы Г-КСФ не могут свидетельствовать о рекомендуемом отказе от эскалации, так как ее применяли как дополнительную меру у пациентов с низкой мобилизирующей активностью ($p=0,022$);

- число полученных токсичных препаратов как в рамках одного курса, так и отдельно ($p=0,030$);

- применение преликсафора – вынужденная мера у заведомо плохо мобилизующихся пациентов ($p=0,039$). Но не всегда его применение преликсафора улучшает мобилизационный потенциал даже в разных режимах дозирования ($p=0,0028$);

- ответ на мобилизацию в поздние сроки также является показателем плохой мобилизации ($p=0,038$);

- вес пациентов, при разделении их на подгруппы, имел влияние, близкое к значимому, однако анализ количественной величины показал ее значимость – отрицательная корреляция веса и успешной мобилизации. Так, при ультранизком весе (до 10 кг) успешная мобилизация проведена у 91,3%, а при весе детей более 15 кг – лишь у 71,1% ($p=0,028$) пациентов.

По данным таблицы 2 отмечаются критерии, не влияющие на качество мобилизации, согласно статистическому анализу:

- пол ($p=0,914$): существенных различий в группах мальчиков и девочек не выявлено;

- поражение костного мозга ($p=0,700$) не влияет на качество мобилизации;

- эффект проведенного лечения до старта мобилизации ($p=0,700$);

- наличие инфекционного процесса в период мобилизации ($p=0,770$);

- стартовая доза Г-КСФ для мобилизации, а также сроки старта мобилизации – не влияли на вероятность успешной мобилизации ($p=0,519$);

- диагноз не оказывает значимого влияния ввиду большого многообразия нозологий ($p=0,119$). Однако нужно учитывать факт, что при саркомах костей и мягких тканей (саркома Юинга, саркомы мягких тканей, низкодифференцированная крупноклеточная саркома, светлоклеточная саркома почки) и рабдоидных опухолях (рабдомиосаркома, рабдоидная опухоль носоглотки параменингеальной локации) была выявлена самая низкая вероятность успешной мобилизации.

Для оценки эффективности мобилизации ГСК у детей в зависимости от режима мобилизации были оценены значения и проведен сравнительный анализ с использованием критерия Манна – Уитни (сравнение независимых групп) и критерия Вилкоксона (сравнение зависимых групп) показателей лейкоцитов и тромбоцитов до и после мобилизации ГСК. Принципиально важно учитывать данные согласно коэффициенту корреляции Спирмена для оценки успешной мобилизации с количественными факторами, представленными в таблице 3.

Таблица 3 – Корреляция успешной мобилизации с количественными факторами

Показатель	Коэффициент корреляции Спирмена, R_s	p
Увеличение возраста (мес.)	-0,24	0,0001
Увеличение веса (кг)	-0,18	0,004
Уровень лейкоцитов перед мобилизацией	0,06	0,336
На какой день от блока ПХТ старт мобилизации	0,01	0,894
День введения плериксофора	-0,14 (чем позже введен, тем хуже)	0,026
Количество дней мобилизации на стартовой дозе Г-КСФ	-0,03	0,636
День ответа на мобилизацию	-0,15	0,020
Уровень тромбоцитов у пациентов в ПК в конце мобилизации	0,16	0,013
Уровень лейкоцитов у пациентов в ПК в конце мобилизации	0,24	0,0001

Продолжение таблицы 3

СКК % конец мобилизации	0,63	0,0000001
СКК абсолют конец мобилизации	0,75	0,0000001
На какой день мобилизации пришлось ее окончание	-0,09	0,154

Исходя из данных таблицы 3, демонстрирующая критерии, оказывающие влияние на режим мобилизации, становится понятным, что по мере увеличения возраста пациента мобилизация будет хуже ($R_s: -0,24$, $p=0,001$); по мере увеличения веса ухудшается вероятность должной мобилизации ($R_s: -0,18$, $p=0,004$); введение плериксафора на поздних сроках мобилизации ухудшает успешность мобилизации ($R_s: -0,14$, $p=0,026$); длительная мобилизация на одинаковой дозе Г-КСФ также негативно влияет на мобилизацию ($R_s: -0,03$, $p=0,63$); чем позднее зафиксирован ответ на мобилизацию, тем ниже качество данной мобилизации ($R_s: -0,15$, $p=0,020$); чем позднее зафиксирован день афереза, тем ниже качество мобилизации ($R_s: -0,09$, $p=0,154$).

Имеются благоприятные факторы, которые заведомо улучшают качество будущей мобилизации с положительным R_s , такие как старт мобилизации на поздних сроках от начала блока химиотерапии, что позволяет лучше восстановиться показателям крови после лечения ($R_s: 0,01$, $p=0,894$). Отсюда вытекает факт, что чем выше будут лейкоциты на старте мобилизации, тем лучше будет ее качество ($R_s: 0,06$, $p=0,336$); более высокий уровень тромбоцитов на старте мобилизации более благоприятно сказывается на ее качестве ($R_s: 0,16$, $p=0,013$); чем выше уровень лейкоцитов у пациентов в ПК в конце мобилизации, тем выше вероятность успешной мобилизации ($R_s: 0,24$, $p=0,0001$); важнейшим итоговым значением этих показателей является уровень CD34+ клеток в периферической крови на конец мобилизации: чем они выше, тем успех мобилизации более очевиден ($R_s: 0,63$, $p=0,0000001$ для процентного соотношения и $R_s: 0,75$, $p=0,0000001$ для абсолютного).

Потенциальное влияние на успех мобилизации гемопоэза также может оказывать применение препаратов, обладающих выраженной миелотоксичностью,

и их комбинации в предшествующих протоколах ПХТ. При анализе частоты их применения в исследуемых группах пациентов не было получено значимых различий в группах НМ и достаточной мобилизации (ДМ) (Таблица 4).

Таблица 4 – Сравнение групп недостаточной и достаточной мобилизации в зависимости от используемой ранее химиотерапии

Химиотерапевтический агент	Группы сравнения				<i>p</i>	Всего (n=257)	
	недостаточная мобилизация (n=64)		достаточная мобилизация (n=193)				
	абс.	%	абс.	%		абс.	%
Доксорубицин	15	23,4	40	20,7	0,383	55	21,4
Ифосфамид	20	31,3	46	23,8	0,156	66	25,7
Винорельбин	1	1,6	8	4,2	0,298	9	3,5
Прокарбазин	1	1,6	1	0,5	0,437	2	0,8
Брентуксимаб ведотин	1	1,6	4	2,1	0,635	5	2,0
Гемцитабин	1	1,6	14	7,3	0,509	15	5,9
Карбоплатин	18	28,1	26	13,5	0,008	44	17,1
Винкристин	31	48,4	87	45,1	0,373	118	45,9
Блеомицин	2	3,1	15	7,8	0,157	17	6,6
Топотекан	18	28,1	43	22,3	0,215	61	23,7
Дакарбазин	4	6,3	22	11,4	0,173	26	10,1
Цисплатин	6	9,4	48	24,9	0,005	54	21,0
Паклитаксел	3	4,7	2	1,0	0,100	5	2,0
Оксалиплатин	–	–	1	0,5	0,751	1	0,4
Доцетаксел	–	–	1	0,5	0,751	1	0,4
Метотрексат	5	7,8	8	4,2	0,199	13	5,1
Актиномицин/ Дактиномицин	1	1,6	4	2,1	0,635	5	2,0
Темозоломид	6	9,4	6	3,1	0,049	12	4,7

Продолжение таблицы 4

Число токсичных препаратов, получаемых единовременно в рамках одного курса ПХТ*	0	2	3,1	1	0,5	0,154	3	1,2
	1	14	21,9	70	36,3	0,022	84	32,7
	2	20	31,3	68	35,2	0,336	88	34,2
	3	24	37,5	40	20,7	0,007	64	24,9
	4	4	6,2	14	7,3	0,521	18	7,0

Примечание: p – уровень значимости критерия χ^2 (χ^2 с поправкой Йетса при значениях в группе менее 5 случаев, различия наблюдаются при $p < 0,05$); * – одновременное применение нескольких ХТ препаратов может влиять как негативно на качество мобилизации, так и положительно.

При анализе влияния миелотоксичных химиотерапевтических агентов статистически значимое негативное влияние в группе НМ на мобилизацию оказали карбоплатин и темозоломид. Карбоплатин получили в составе предшествующих блоков ПХТ 18 (28,1%) пациентов из группы НМ и 6 (9,4%) пациентов из группы ДМ, темозоломид – 6 (9,4%) и 6 (3,1%) пациентов, соответственно. Кроме того, в группе НМ статистически значимо выше было число пациентов, получавших одновременно три токсичных химиоагента за курс – 24 (37,5%) по сравнению с 40 (20,7%) в группе ДМ. При этом меньшая миелотоксичность в виде всего одного токсичного агента в одном блоке ПХТ значимо улучшала успешность мобилизации – число пациентов, получавших такие блоки химиотерапии, было значимо больше в группе ДМ по сравнению с группой НМ – 70 (36,3%) и 14 (21,9%), соответственно.

Учитывая тот факт, что на режим мобилизации и сбора ГСК пациенты выходят на разных этапах химиотерапевтического лечения, проведен анализ успешности мобилизации у пациентов, получавших ряд часто встречающихся химиотерапевтических агентов, представленных в таблице 5. У 100% из них успех мобилизации был достигнут на стандартных дозах мобилизационного агента. Неблагоприятными для мобилизации являются препараты: прокарбазин, темодал, паклитаксел.

Таблица 5 – Частота успешных мобилизаций в зависимости числа химиотерапевтических препаратов, применяемых в терапии злокачественных новообразований

Препарат	Частота успешной мобилизации		Число пациентов
	абс.	%	
Оксалиплатин	1	100	1
Доцетаксел	1	100	1
Гемцитацин	15	90,9	15
Винорелебин	8	88,9	9
Цисплатин	48	88,9	54
Блеомицин	15	88,2	17
Дакарбазин	22	84,6	26
Адцетрис	4	80	5
Актиномицин (дактиномицин)	4	80	5
Винкристин	87	73,7	118
Доксорубицин	40	72,7	55
Топотекан	43	70,5	61
Ифосфамид	46	69,7	66
Метотрексат	8	61,5	13
Карбоплатин	26	59,1	44
Прокарбазин	1	50	2
Темозоломид	6	50	12
Паклитаксел	2	40	5

Все значимые при однофакторном анализе параметры включили в многофакторный анализ.

В результате проведения многофакторного регрессионного анализа, выполненного методом пошагового исключения, получены значимые независимые прогностические факторы для успешной мобилизации (Таблица 6).

Таблица 6 – Значимые факторы успешной мобилизации

Фактор	Успешность мобилизации, 193 (75,1%)		
	Отношение шансов	95% CI	p
Статистически критерии			
Возраст	0,990	0,985-0,996	0,0001
Предлеченность (3 и более курсов)	0,408	0,165-0,999	0,049
Лучевая терапия	0,478	0,232-0,984	0,045
Лейкоциты (уровень на старте мобилизации)	1,059	1,030-1,090	0,0001

В настоящем исследовании данные убедительно свидетельствуют, что увеличением возраста пациента, проведением в анамнезе трех и более курсов ПХТ и ЛТ вероятность удачной мобилизации снижается, при увеличении уровня лейкоцитов в периферической крови – повышается.

Как видно, возраст пациентов является важным прогностическим фактором, поэтому рассмотрим более подробно.

3.2 Оценка эффективности мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у детей разных возрастных групп

Основной целью сравнения эффективности разных режимов мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у детей шести возрастных групп является достижение целевого значения для одной аутологичной ТГСК уровня CD34+ клеток в трансплантате $2 \times 10^6/\text{кг}$ или $4 \times 10^6/\text{кг}$ при тандемной; для этого необходимо выявить положительные и отрицательные критерии как успешной, так и недостаточной мобилизации гемопоэтических стволовых клеток. Первостепенно необходимо представить характеристики пациентов (Таблица 7).

Данные из таблицы 7 демонстрируют следующее:

- имеется равное соотношение в возрастных группах среди мальчиков и девочек;
- ультранизкий вес (менее 10 кг) зарегистрирован у 100% детей до года и у 24,3% детей в возрасте от 1 года до 3 лет;

Таблица 7 – Инициальные характеристики пациентов в зависимости от возрастной группы

Критерий		Возрастная группа											
		до 1 года		от 1 года до 3 лет		от 3 до 6 лет		от 6 до 10 лет		от 10 до 15 лет		от 15 до 18 лет	
Число пациентов		6		70		52		43		58		28	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Пол	Муж.	3	50	36	51,4	28	53,8	21	48,8	29	50,0	13	46,4
	Жен.	3	50	34	48,6	24	46,2	22	51,2	29	50,0	15	53,6
Вес	≤10 кг	6	100	17	24,3 *0,0005	–	- *0,00001	–	- *0,00001	–	- *0,00001	–	- *0,00001
	10,1-15 кг	–	–	46	65,7 **0,003	21	40,4	1	2,3	–	–	–	–
	>15 кг	–	–	7	10,0	31	59,6 *0,007	42	97,7 *0,00001	58	100 *0,00001 +0,00001 #0,00001	28	100 *0,00001 +0,00001 #0,00001
Диагноз	Эмбриональные нейрогенные опухоли	5	83,3	45	64,2	31	59,7	9	20,9 *0,005+0, 00001 #0,0001	7	12,1 *0,0006+0, ,00001 #0,00001	1	3,6
	Эмбриональные опухоли почек	–	–	2	2,9	7	13,5	3	7,0	–	–	1	3,6
	Опухоли ЦНС	1	16,7	2	2,9	2	3,8	2	4,6	3	5,2	–	–
	Саркомы (костей и мягких тканей)	–	–	4	5,7	4	7,7	16	37,2	32	55,1	15	53,6
	Лимфомы	–	–	–	–	2	3,8	3	7,0	7	12,1	5	17,8
	Герминогенно-клеточная опухоль	–	–	11	15,7	2	3,8	5	11,6	1	1,7	2	7,1
	Рабдоидные опухоли	–	–	4	5,7	3	5,8	2	4,7	5	8,6	3	10,7
	Другие	–	–	2	2,9	1	1,9	3	7,0	3	5,2	1	3,6

Продолжение таблицы 7

1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Стадия	I	–	–	2	2,9	1	1,9	–	–	2	3,4	–	–
	II	1	16,7	2	2,9	5	9,6	12	27,9	22	37,9 +0,00001 #0,0005	3	10,7 ^0,007
	III	2	33,3	9	12,8	11	21,2	5	11,6	7	12,1	5	17,9
	IV	3	50,0	57	81,4	35	67,3	26	60,5	27	46,6 +0,00001 #0,023	20	71,4 ^0,025
Предшествующая ХТ (3 и более курсов)		2	33,3	32	45,7	29	55,8	26	60,5	40	69,0 +0,007	22	78,6 *0,048 +0,003 #0,036
Лучевая терапия		–	–	6	8,6	9	17,3	8	18,6	21	36,2 +0,0002 #0,022 @0,042	12	42,9 +0,0002 #0,015 @0,026
Лечение до мобилизации	нет	1	16,7	34	48,6	14	26,9 +0,012	13	30,2 +0,042	18	31,0 +0,033	8	28,6
	операция	5	83,3	30	42,9	29	55,8	22	51,2	19	32,8 *0,025	8	28,6 *0,021
	Лучевая терапия	–	–	2	2,8	3	5,8	1	2,3	9	15,5	2	7,1
	Операция + Лучевая терапия	–	–	4	5,7	6	11,5	7	16,3	12	20,7 +0,011	10	35,7 +0,0004 #0,012
Число линий ХТ	1	6	100	58	85,9	35	67,3	25	58,1	31	53,5 *0,031	11	39,3 *0,009 +0,00001 #0,015
	2	–	–	11	15,7	16	30,8	15	34,9 +0,018	19	32,8	15	53,6 *0,020 +0,0002

Продолжение таблицы 7

1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	3	–	–	1	1,4	1	1,9	3	7,0	7	12,1	2	7,1
	5	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1,7	–	–
Эффект лечения к моменту мобилизации	Полная регрессия	–	–	1	1,4	–	–	3	7,0	2	3,5	–	–
	Частичная	–	–	9	12,9	10	19,2	5	11,6	6	10,3	6	21,4
	Стабилизация	6	100	59	84,3	41	78,9	33	76,7	48	82,7	18	64,3 +0,031 #0,015
	Прогрессирование	–	–	1	1,4	1	1,9	2	4,7	2	3,5	4	14,3 +0,023 #0,048
Восстановление ростков кроветворения	Да	5	83,3	67	95,7	50	96,2	40	93,0	45	77,6 +0,002 #0,004 @0,031	24	85,7
	Нет	1	16,7	3	4,3	2	3,8	3	7,0	13	22,4	4	14,3
Генерализованный инфекционный процесс		–	–	6	8,6	3	5,8	3	7,0	4	6,9	2	7,1
Успешная мобилизация		5	83,3	61	87,1	43	82,7	32	74,4	35	60,3 +0,0005 #0,008	17	60,7 +0,005 #0,031 @0,031
Вес, кг		8,3±1,1		12,2±2,4 *0,0002		16,8±4,1 *0,00001 +0,00001		28,1±10,5 *0,00003 +0,00001 #0,00001		49,9±18,8 *0,00001 +0,001 #0,0000001 @0,0000001		51,6±12,7 *0,0000001 +0,001 #0,0000001 @0,0000001	

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с детьми до 1 года, $p < 0,05$; + – статистически значимые различия по сравнению с детьми 1-3 лет, $p < 0,05$; # – статистически значимые различия по сравнению с детьми 3–6 лет, $p < 0,05$; @ – статистически значимые различия по сравнению с детьми 6-10 лет, $p < 0,05$; ^ – статистически значимые различия по сравнению с детьми 10-15 лет, $p < 0,05$.

- частота предпочтительности и лучевой терапии линейно нарастает с возрастом, что говорит о более ограниченных терапевтических опциях у детей младшего возраста;
- частота успешных мобилизаций и аферезов в нашем исследовании высокая во всех возрастных группах, что важно в группах «недостаточной мобилизации»;
- между успешными мобилизациями и аферезами выявлена значимая положительная корреляция ($R=0,61$, $p=0,0000001$);
- у детей младших возрастных групп преобладают эмбриональные нейrogenные опухоли, у старших (подростков) – саркомы (костей и мягких тканей).

В зависимости от режима мобилизации отмечается разная длительность процесса стимуляции и разные дозы Г-КСФ с эскалацией в нескольких возрастных группах (Таблица 8).

Согласно данным из таблицы 8 видно, что ранняя мобилизация после ПХТ была проведена только у одного пациента в группе от 10 до 15 лет. Чаще всего к средним срокам старта мобилизации прибегли 10 пациентов из группы от 1 года до 3 лет и 10 пациентов из группы от 3 до 6 лет. Чаще позднюю мобилизацию проводили 60 пациентов из группы от 1 года до 3 лет. Связано это с тем, что в этой группе преобладали пациенты с эмбриональными опухолями, где интервалы между курсами ХТ позволяли достичь восстановления гемопоэза.

По характеристикам режимов мобилизации группы сравнения были сопоставимы ($p>0,05$) в зависимости от следующих показателей: времени старта мобилизации после курса ПХТ, применения различных препаратов Г-КСФ, стартовых доз Г-КСФ, продолжительности стимуляции в стартовой дозе, деэскалации дозы Г-КСФ, времени старта афереза от времени старта мобилизации. Эскалации дозы Г-КСФ в возрастной группе от 10 до 15 лет проводилась чаще, чем в других (32,8%). Подключение плериксафора к режиму мобилизации чаще проводилось в возрасте от 10 до 15 лет; в этой возрастной группе зафиксированы самые частые повторные аферезы у 20 (37,7%) пациентов.

Таблица 8 – Характеристики режимов мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов, включенных в исследование, в зависимости от возрастной группы

Характеристики режимов мобилизации		Возрастная группа											
		до 1 года		от 1 года до 3 лет		от 3 до 6 лет		от 6 до 10 лет		от 10 до 15 лет		от 15 до 18 лет	
		6		70		52		43		58		28	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Старт мобилизации от времени окончания блока ПХТ	Ранний (1-3 дня)	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1,7	–	–
	Средний (4-10 дней)	3	50,0	10	14,3	10	19,2	8	18,6	8	13,8	4	14,3
	Поздний	3	50,0	60	85,7	42	80,8	35	81,4	49	84,5	24	85,7
Предшествующее мобилизации лечение	2-3 курса ПХТ в рамках протокола терапии с восстановлением гемопоэза	1	16,7	18	25,7	9	17,3	9	20,9	8	13,8	3	10,7
	4 и более курса ПХТ с восстановлением гемопоэза	–	–	13	18,6	4	7,7	4	9,3	3	5,2	5	17,9
	2-3 курса ПХТ без восстановления гемопоэза	1	16,7	3	4,3	2	3,8	3	7,0	13	22,4	4	14,2
	Оперативное лечение	4	66,6	29	41,4	28	53,9	21	48,9	17	29,3	5	17,9
	Лучевая терапия	–	–	5	7,1	9	17,3	5	11,6	15	25,9	11	39,3
	Предшествующего лечения не проводилось	–	–	2	2,9	–	–	1	2,3	2	3,4	–	–
Режим мобилизации	Г-КСФ в монорежиме	–	–	15	21,4	14	26,9	21	48,8	26	44,8	9	32,1
	Г-КСФ + циклофосфамид	5	83,3	51	72,9	32	61,5	17	39,5	19	32,8	15	53,6
	Г-КСФ + плериксафор	–	–	1	1,4	2	3,9	2	4,7	8	13,8	1	3,6
	Г-КСФ + циклофосфамид + плериксафор	1	16,7	3	4,3	4	7,7	3	7,0	5	8,6	3	10,7
Итого плериксафор		1	16,7	3	4,3	5	9,6	4	9,3	13	22,4	4	14,3
Доза плериксафора (из получавших)	0,12	1	100	2	66,7	4	80,0	3	75,0	8	61,5	2	50,0
	0,24	–	–	1	33,3	1	20,0	1	25,0	5	38,5	2	50,0
Дни (для получавших)		6		4,8±2,9		6,3±2,7		6,0±2,4		4,6±2,3		8,3±4,9	

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Препараты Г-КСФ	Нейпомакс	3	50,0	30	42,9	25	48,1	23	53,5	24	41,4	16	57,2
	Лейкостим	2	33,3	24	34,3	15	28,9	8	18,6	18	31,0	6	21,4
	Зарсио	1	16,7	11	15,7	10	19,2	12	27,9	13	22,4	4	14,3
	Граноген	–	–	5	7,1	2	3,8	–	–	3	5,2	2	7,1
Стартовая доза Г-КСФ для мобилизации	5 мкг	–	–	1	1,4	–	–	–	–	1	1,7	–	–
	10 мкг	6	100	67	95,7	50	96,2	41	95,3	50	86,2	26	92,9
	20 мкг	–	–	2	2,9	2	3,8	2	4,7	7	12,1	2	7,1
Время на стартовой дозе (дни) (МЕ [Q1; Q3], (мин-макс)		4,5 [4;5]		4 [3;5]		4 [3;5]		5 [4;6]		4[3;5] @0,031		4[3;6]	
Старт мобилизации – день от блока		12,5 [10;16]		15,0 [13;18]		15,0 [11;17,5]		15,0 [11;19]		16,5 [12;21]		17,5 [15;20,5] #0,036	
Эскалация дозы	не было	5	83,3	59	84,3	39	75,0	33	76,7	32	55,2	22	78,6
	была	1	16,7	9	12,9	11	21,2	8	18,6	19	32,8	4	14,3
	исходно эскалирована	–	–	2	2,9	2	3,9	2	4,7	7	12,1	2	7,1
Ответ на мобилизацию	нет	–	–	3	4,3	2	3,9	2	4,6	2	3,5	2	7,1
	1-4 день	1	16,7	35	50,0	19	36,5	11	25,6	25	43,1	12	42,9
	5 день	3	50,0	16	22,9	17	32,7	15	34,9	17	29,3	8	28,6
	6-9 день	2	33,3	14	20,0	14	26,9	12	27,9	13	22,4	4	14,3
	10 и более дней	–	–	2	2,8	–	–	3	7,0	1	1,7	2	7,1
Старт афереза от старта мобилизации	Ранний (1-3 дня)	–	–	6	8,6	3	5,8	1	2,3	4	6,9	2	7,1
	Средний (4-10 дней)	6	100	63	90,0	48	92,3	40	93,0	51	87,9	23	82,2
	Поздний	–	–	1	1,4	1	1,9	2	4,7	3	5,2	3	10,7
Уровень CD34/кг в трансплантате	до 2 клеток	1	16,7	5	7,1	7	13,5	9	20,9	22	37,9	5	17,9
	2-3,9 клетки	1	16,7	12	17,1	9	17,3	11	25,6	13	22,4	7	25,0
	4 -10	3	50,0	23	32,9	19	36,5	13	30,2	11	19,0	11	39,2
	более 10	1	16,6	30	42,9	17	32,7	10	23,3	12	20,7	5	17,9
Вид трансплантации	нет	–	–	7	10,0	4	7,7	6	14,0	5	8,6	6	21,4
	тандем	–	–	11	15,7	2	3,8	4	9,3	3	5,2	–	–
	тгск	6	100	52	74,3	46	88,5	33	76,7	50	86,2	22	78,6

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Потребовался повторный аферез – с учетом CD34/кг и планируемого вида трансплантации (без тех, кому не делали) – можно назвать частоту недостаточных сборов		1	16,7	7	11,1	7	14,6	8	21,6	20	37,7	4	18,2

Примечание: # – статистически значимые различия по сравнению с детьми 3-6 лет, $p < 0,05$; @ – статистически значимые различия по сравнению с детьми 6-10 лет, $p < 0,05$.

На фоне мобилизации развились следующие побочные эффекты у детей (Таблица 9).

Таблица 9 – Частота побочных эффектов на мобилизацию в зависимости от возрастной группы

Побочный эффект	Возрастная группа											
	до 1 года		от 1 года до 3 лет		от 3 до 6 лет		от 6 до 10 лет		от 10 до 15 лет		от 15 до 18 лет	
	6		70		52		43		58		28	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Нет	5	83,3	53	75,7	37	71,2	32	74,4	37	63,8	12	42,9
Слабость	1	16,7	–	–	–	–	1	2,3	–	–	–	–
Боль в костях, суставах, мышцах	–	–	7	10,0	5	9,6	2	4,6	12	20,7	10	35,7
Температура	–	–	8	11,4	7	13,5	5	11,6	1	1,7	1	3,6
Диарея	–	–	–	–	–	–	–	–	2	3,4	–	–
Гиперемия в месте введения	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1,7	–	–
Боль в костях, суставах, мышцах + температура	–	–	1	1,4	3	5,8	2	4,6	4	6,9	2	7,1
Боль в костях, суставах, мышцах + головная боль	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	7,1
Температура + беспокойство	–	–	1	1,4	–	–	–	–	–	–	–	–
Слабость + температура + головная боль	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	3,6
Боль в костях, суставах, мышцах + температура + диарея	–	–	–	–	–	–	1	2,3	1	1,7	–	–

Общее число побочных эффектов невелико, что является важным параметром безопасности применения Г-КСФ в педиатрической практике. Самыми частыми побочными эффектами были боль в костях, суставах и мышцах, и развились у 36 (15,6%) пациентов разных возрастных групп.

Стартовые показатели лейкоцитов и гемоглобина показали статистически значимые различия в разных возрастных группах (Таблица 10). Чаще с восстановленным лейкоцитарным ростком начинали мобилизацию пациенты из группы от 3 до 6 лет $n=52$ (20,2%), без восстановления показателей до $1 \times 10^9/\text{л}$ и $\text{Me}=0,87 \times 10^9/\text{л}$, были пациенты из группы от 15 до 18 лет $n=28$ (10,8%).

Таблица 10 – Уровни лейкоцитов и гемоглобина на старте мобилизации

Показатель	Возрастная группа					
	до 1 года	от 1 года до 3 лет	от 3 до 6 лет	от 6 до 10 лет	от 10 до 15 лет	от 15 до 18 лет
Возрастная группа	до 1 года	от 1 года до 3 лет	от 3 до 6 лет	от 6 до 10 лет	от 10 до 15 лет	от 15 до 18 лет
Число пациентов	6	70	52	43	58	28
Лейкоциты ($n \times 10^9/\text{л}$)	0,88 [0,76; 1,0]	0,95 [0,79; 1,0]	1,0 [0,83; 1,16]	0,89 [0,79; 1,12]	0,89 [0,67; 1,20]	0,87 [0,72; 0,99] +0,039 #0,012
Гемоглобин (г/л)	90 [87; 92]	99 [96; 102] *0,002	98 [95; 102] *0,005	99 [96; 102] *0,006	100 [95; 105] *0,010	102 [96; 104] *0,013

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с детьми до 1 года, $p < 0,05$; + – статистически значимые различия по сравнению с детьми 1-3 лет, $p < 0,05$; # – статистически значимые различия по сравнению с детьми 3-6 лет, $p < 0,05$.

Показатели крови после проведенного режима мобилизации также варьировались в зависимости от возрастной группы (Таблица 11).

Таблица 11 – Уровни показателей крови после мобилизации на старте афереза

Показатель	Возрастная группа					
	до 1 года	от 1 года до 3 лет	от 3 до 6 лет	от 6 до 10 лет	от 10 до 15 лет	от 15 до 18 лет
Возрастная группа	до 1 года	от 1 года до 3 лет	от 3 до 6 лет	от 6 до 10 лет	от 10 до 15 лет	от 15 до 18 лет
Число пациентов	6	70	52	43	58	28
Тромбоциты ($n \times 10^9/\text{л}$)	105 [59; 212]	124,5 [64; 279]	124,5 [75; 200]	142 [69; 203]	120 [66; 183]	111 [67,5; 182]

Лейкоциты ($n \times 10^9/\text{л}$)	12,0 [7,3; 33,4]	17,4 [10,2; 26,1]	20,4 [9,0; 28,1]	23,8 [13,5; 33,0] *0,028	23,6 [15,0; 38,0] *0,005	23,5 [14,5; 34,1] *0,019
Гемогло- бин (г/л)	110 [85; 135]	101 [94; 111]	99 [93; 105]	100 [92; 106]	105 [97; 114] +0,034 #0,036	100 [94; 107]
СКК старт (%)	1,2 [0,1; 1,5]	0,6 [0,3; 1,2]	0,4 [0,2; 1,2]	0,3 [0,1; 0,7] *0,004	0,2 [0,05; 0,4] *0,0000001 +0,0001	0,4 [0,06; 0,22] *0,0000001 +0,00008 #0,009
СКК (кЛ/мкЛ)	82,6 [36,8; 167,4]	99,5 [31,6; 251,0]	61,4 [31,1; 170,8]	46,9 [15,1; 138,8] *0,037	48,7 [11,3; 117,4] *0,0007 +0,043	29,4 [9,7; 66,8] *0,0002 +0,005
Фибриноге н (г/л)	2,7 [2,0; 3,0]	2,0 [2,0; 2,7]	2,1 [2,0; 2,5]	2,4 [2,0; 3,0]	2,0 [1,9; 2,8]	2,8 [2,0; 3,0] *0,030 @0,041

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с детьми до 1-3 лет, $p < 0,05$; + – статистически значимые различия по сравнению с детьми 3-6 лет, $p < 0,05$; # – статистически значимые различия по сравнению с детьми 6-10 лет, $p < 0,05$; @ – статистически значимые различия по сравнению с детьми 10-15 лет, $p < 0,05$.

Оценивая уровни тромбоцитов после мобилизации у детей всех возрастных групп, значимых статистических различий не выявлено. Выявлены статистически значимые различия уровня лейкоцитов после мобилизации в группах от 10 до 15 лет ($p=0,005$); от 15 до 18 лет ($p=0,028$) и от 6 лет ($p=0,028$) до 10 лет по сравнению с группой от 1 года до 3 лет. Оценивая уровни CD34+ клеток в процентном и абсолютном значении, видимые статистические различия отмечаются по мере увеличения возраста, и разница между средними значениями пациентов первого года жизни и группы от 15 до 18 лет составляет 2,8 раза в сторону уменьшения их числа ($p=0,0002$, +0,005).

Анализ характеристик возрастных групп показал различия между младшими и старшими детьми по предпочтительности, и по характеру заболеваний. Для выявления возможной критической точки для возраста, имеющей значение для прогнозирования успешной мобилизации, мы провели анализ ROC-кривой (Рисунок 6).

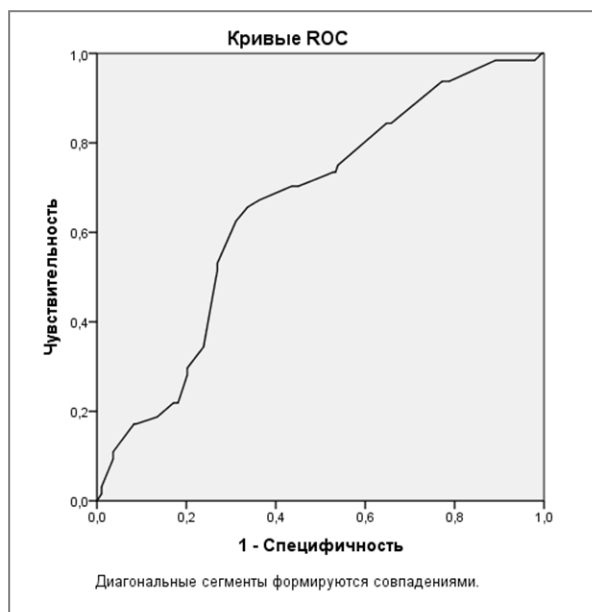


Рисунок 6 – ROC-кривая оценивающая влияние возраста на качество мобилизации

С помощью ROC-кривой (площадь под кривой составила 0,658 (95% ДИ 0,573-0,762), $p=0,0001$) определили критическую точку по Юдену – значение возраста 8 лет (96 мес.), чувствительность в которой составила 65,6% при специфичности 66,3%. Из 144 пациентов до 8 лет успешная мобилизация в 123 случаев (85,4%), у пациентов 8 лет и старше – в 70 случаях (61,9%), $p=0,00001$. Вероятно, этот возраст связан с началом периода препубертата и резким увеличением массо-ростовых индексов соответственно возрасту.

3.3 Эффективность мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у детей разных возрастных групп в зависимости от типа опухоли и количества линий химиотерапии

В клиническом исследовании оценивалась зависимость эффективности мобилизации ГСК у детей в обозначенных возрастных группах от типа заболевания и количества предшествующих линий ПХТ. Исследование показывает необходимость описать критерии отбора пациентов, не достигших должного уровня ГСК в день афереза и являющимися пациентами с «недостаточной мобилизацией». Плохая мобилизационная активность также напрямую коррелирует с количеством линий химиотерапии (Таблица 12), наличием в анамнезе лучевой терапии и оперативного вмешательства. Но несмотря на низкие стартовые уровни ГСК в периферической крови на фоне предлеченности, остается возможность собрать оптимальное число стволовых клеток даже в группах НМ для проведения аутологичной ТГСК.

Таблица 12 – Частота успешных мобилизаций в зависимости от диагнозов и количества линий терапии у пациентов разных возрастных групп

Показатель			Частота успешной мобилизации		Число больных
			абс.	%	
Возраст	Диагноз	Линий			
До 1 года	Эмбриональные нейрогенные опухоли	1	4	80,0	5
	Опухоли ЦНС	1	1	100	1
От 1 года до 3 лет	Эмбриональные нейрогенные опухоли	1	34	87,2	39
		2	5	83,3	6
	Эмбриональные опухоли почек	2	2	100	2
	Опухоли ЦНС	1	2	100	2
	Саркомы (костей и мягких тканей)	1	4	100	4
	Герминогенно-клеточная опухоль	1	8	88,9	9
		2	2	100	2
Рабдоидные опухоли	1	2	66,7	3	

		3	0	0	1
	Другие	1	1	100	1
		2	1	100	1
От 3 до 6 лет	Эмбриональные нейрогенные опухоли	1	22	91,7	24
		2	4	66,7	6
		3	0	0	1
	Эмбриональные опухоли почек	1	2	100	2
		2	3	60,0	5
	Опухоли ЦНС	1	1	50,0	2
	Саркомы (костей и мягких тканей)	1	3	75,0	4
	Лимфомы	1	1	100	1
		2	1	100	1
	Герминогенно-клеточная опухоль	1	1	100	1
		2	1	100	1
	Рабдоидные опухоли	2	3	100	3
Другие	1	1	100	1	
От 6 до 10 лет	Эмбриональные нейрогенные опухоли	1	8	100	8
		2	1	100	1
	Эмбриональные опухоли почек	1	1	100	1
		2	2	100	2
	Опухоли ЦНС	1	2	100	2
	Саркомы (костей и мягких тканей)	1	3	42,9	7
		2	5	83,3	6
		3	1	33,3	3
	Лимфомы	1	1	50,0	2
		2	1	100	1
	Герминогенно-клеточная опухоль	1	1	100	1
		2	2	50,0	4
	Рабдоидные опухоли	1	2	100	2
	Другие	1	1	50,0	2
		2	1	100	1
От 10 до 15 лет	Эмбриональные нейрогенные опухоли	1	1	50,0	2
		2	0	0	4
		3	1	100	1
	Опухоли ЦНС	1	3	100	3
	Саркомы (костей и мягких тканей)	1	14	70,0	20
		2	4	57,1	7
	3	1	20,0	5	

Продолжение таблицы 12

	Лимфомы	2	7	100	7
	Герминогенно-клеточная опухоль	1	1	100	1
	Рабдоидные опухоли	1	1	33,3	3
		3	1	100	1
		5	0	0	1
	Другие	1	1	50,0	2
2		0	0	1	
От 15 до 18 лет	Эмбриональные нейрогенные опухоли	1	1	100	1
	Эмбриональные опухоли почек	2	1	100	1
	Саркомы (костей и мягких тканей)	1	3	75,0	4
		2	3	33,3	9
		3	1	50,0	2
	Лимфомы	1	2	66,7	3
		2	2	100	2
	Герминогенно-клеточная опухоль	1	2	100	2
	Рабдоидные опухоли	1	0	0	1
		2	1	50,0	2
	Другие	2	1	100	1

Из таблицы 12 видно, что снижение вероятности успешной мобилизации связано с числом проведенных линий химиотерапии. Так, при проведении одной линии (n=166) частота успешных мобилизаций равна 135 (81,3%), после двух линий (n=79) – 53 (69,7%), после трех (n=14) – только 5 (35,7%). 5 линий терапии получил 1 пациент – мобилизация неуспешна. Из этого можно сделать вывод о целесообразности проведения попытки мобилизации как можно раньше для достижения максимально успешного результата.

Важно рассматривать каждую возрастную группу в отдельности. Так, в группе детей до 1 года все 6 пациентов с эмбриональными нейрогенными опухолями и опухолями ЦНС получали только одну линию ХТ до мобилизации, что позволило достичь успеха мобилизации в 80-100%; в группе детей от 1 года до 3 лет пациенты с эмбриональными нейрогенными опухолями (n=6), эмбриональными опухолями почек (n=2), герминогенно-клеточной опухолью (n=2), другие опухоли (n=1) – получили две линии ХТ и достигли успешной

мобилизации в 83-100%; в группе от 3 до 6 лет пациенты с эмбриональными нейрогенными опухолями (n=6), эмбриональными опухолями почек (n=5), лимфомой (n=1), гермигогенно-клеточной опухолью (n=1), рабдоидными опухолями (n=3) – получили две линии ХТ и достигли успешной мобилизации в 60-100%; в группе от 6 до 10 лет пациенты с эмбриональными нейрогенными опухолями (n=1), эмбриональными опухолями почек (n=2), саркомами (костей и мягких тканей) (n=6), лимфомой (n=1), гермигогенно-клеточной опухолью (n=4), другими опухолями (n=1) – получили две линии ХТ и достигли успешной мобилизации в 50-100%; в группе от 10 до 15 лет пациенты с эмбриональными нейрогенными опухолями (n=1), эмбриональными опухолями почек (n=1), саркомами (костей и мягких тканей) (n=7), лимфомой (n=7), рабдоидной опухолью (n=1) – получили две-три линии ХТ и достигли успешной мобилизации в 57,1-100%; в группе от 15 до 18 лет пациенты с эмбриональной опухолью почек (n=1), саркомой (костей и мягких тканей) (n=11), лимфомой (n=2), рабдоидной опухолью (n=2), другими опухолями (n=1) – получили две-три линии ХТ и достигли успешной мобилизации в 33,3-100%.

Абсолютно неэффективными были попытки мобилизации только у 8 (3,4%) из 230 пациентов, это пациенты из возрастных групп от 1 года до 3 лет – 1 (0,43%) пациент, имеющий три линии в анамнезе; от 3 до 6 лет – 1 (0,43%) пациент, имеющий в анамнезе три линии терапии, от 10 до 15 лет – 5 (2,17%) пациентов, получивших две линии терапии, от 15 до 18 лет – 1 (0,43%) пациент, получивший одну линию терапии.

3.4 Эффективность разных режимов мобилизации в зависимости от инициальных характеристик пациентов и особенностей протокола мобилизации

Проведена сравнительная оценка результатов мобилизации на разных этапах терапевтического, хирургического и лучевого лечения (Таблица 13).

Таблица 13 – Инициальные характеристики пациентов и особенности протокола мобилизации и афереза ГСК

Характеристика		Этап мобилизации											
		старт мобилизации после 2-3 планового курса ПХТ в рамках протокола терапии с восстановлением гемопоэза		после 3х и более курсов ПХТ с восстановлением гемопоэза		после 2-3 планового курса ПХТ без восстановления гемопоэза		после операции		после лучевой терапии		до лечения	
Число пациентов		48		29		26		104		45		5	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Пол	Муж.	30	62,5	15	51,7	14	53,9	51	49,0	17	37,8	3	60,0
	Жен.	18	37,5	14	48,3	12	46,1	53	51,0	28	62,2	2	40,0
Возрастная группа	До 1 года	1	2,1	–	–	1	3,9	4	3,8	–	–	–	–
	От 1 до 3 лет	18	37,5	13	44,8	3	11,5	29	27,9	5	11,1	2	40,0
	От 3 до 6 лет	9	18,8	4	13,8	2	7,7	28	26,9	9	20,0	–	–
	От 6 до 10 лет	9	18,8	4	13,8	3	11,5	21	20,2	5	11,1	1	20,0
	От 10 до 15 лет	8	16,6	3	10,3	13	50,0	17	16,4	15	33,3	2	40,0
	От 15 до 18 лет	3	6,2	5	17,3	4	15,4	5	4,8	11	24,5	–	–
Вес	≤10 кг	3	6,3	4	13,8	1	3,8	12	11,6	2	4,4	1	20,0
	10,1-15 кг	15	31,2	12	41,4	4	15,4	33	31,7	3	6,7	1	20,0
	>15 кг	30	62,5	13	44,8	21	80,8	59	56,7	40	88,9	3	60,0
Диагноз	Эмбриональные нейрогенные опухоли	25	52,1	12	41,3	3	11,5	52	50,0	4	8,9	2	40,0
	Эмбриональные опухоли почек	–	–	–	–	–	–	7	6,7	6	13,3	–	–

Продолжение таблицы 13

1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	Опухоли ЦНС	1	2,1	–	–	–	–	6	5,7	3	6,7	–	–
	Саркомы (костей и мягких тканей)	11	22,9	3	10,3	19	73,1	16	15,4	19	42,2	3	60,0
	Лимфомы	1	2,1	8	27,6	–	–	3	2,9	5	11,1	–	–
	Герминогенно-клеточная опухоль	4	8,4	4	13,8	–	–	12	11,5	1	2,2	–	–
	Рабдоидные опухоли	3	6,2	1	3,5	3	11,5	4	3,9	6	13,4	–	–
	Другие	3	6,2	1	3,5	1	3,9	4	3,9	1	2,2	–	–
Стадия	I	1	2,1	2	6,9	–	–	2	1,9	–	–	–	–
	II	4	8,3	7	24,1	12	46,2	13	12,5	8	17,8	1	20,0
	III	6	12,5	5	17,3	2	7,7	18	17,3	7	15,5	1	20,0
	IV	37	77,1	15	51,7	12	46,1	71	68,3	30	66,7	3	60,0
Инфекция		2	4,2	3	10,3	2	7,7	6	5,8	5	11,1	-	-
Успешная мобилизация		45	93,8	22	75,9	15	57,7	79	76,0	28	62,2	4	80,0
Старт мобилизации от времени окончания блока ПХТ	Ранний (1-3 дня)	1	2,1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Средний (4-10 дней)	6	12,5	2	6,9	8	30,8	18	17,3	8	17,8	1	20,0
	Поздний	41	85,4	27	93,1	18	69,2	86	82,7	37	82,2	4	80,0
Медикаментозный режим мобилизации	Г-КСФ в монорежиме	12	25,0	18	62,1	15	57,7	27	26,0	11	24,4	2	40,0
	Г-КСФ + циклофосфамид	33	68,8	11	37,9	2	7,7	65	62,5	26	57,8	2	40,0
	Г-КСФ + плериксафор	–	–	–	–	5	19,2	7	6,7	2	4,5	–	–
	Г-КСФ + циклофосфамид + плериксафор	3	6,2	–	–	4	15,4	5	4,8	6	13,3	1	20,0
Итого плериксафор		3	6,3	–	–	–	34,6	12	11,5	8	17,8	1	20,0
Доза плериксафора (из получавших)	0,12	2	4,2	–	–	5	19,2	11	10,5	5	11,1	–	–
	0,24	1	2,1	–	–	4	15,4	1	1,0	3	6,7	1	20,0
Дни													
Стартовая доза Г-КСФ для мобилизации	5 мкг	–	–	1	3,4	–	–	1	1,0	–	–	–	–
	10 мкг	46	95,8	27	93,1	20	76,9	101	97,1	41	91,1	5	100
	20 мкг	2	4,2	1	3,5	6	23,1	2	1,9	4	8,9	-	-
Время на стартовой дозе (дни) (МЕ [Q1; Q3], (мин-макс)													

Продолжение таблицы 13

1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Эскалация дозы	не было	40	83,3	24	82,8	14	53,8	79	76,0	29	64,4	4	80,0
	была	6	12,5	4	13,8	6	23,1	23	22,1	12	26,7	1	20,0
	исходно эскалированная	2	4,2	1	3,4	6	23,1	2	1,9	4	8,9	–	–
Ответ на мобилизацию	нет	2	4,2	–	–	–	–	5	4,8	3	6,7	1	20,0
	1-4 день	19	39,6	14	42,3	11	42,3	39	37,5	18	40,0	2	40,0
	5 день	14	29,2	9	31,0	8	30,8	31	29,8	12	26,7	2	40,0
	6-9 день	13	27,1	5	17,2	5	19,2	26	25,0	10	22,2	–	–
	10 и более день	–	–	1	3,5	2	7,7	3	2,9	–	–	–	–
Старт афереза от старта мобилизации	Ранний (1-3 дня)	2	4,2	4	13,8	2	7,7	1	1,0	6	13,3	1	20,0
	Средний (4-10 дней)	44	91,6	25	86,2	23	88,5	100	96,2	35	77,8	4	80,0
	Поздний	2	4,2	–	–	1	3,8	3	2,8	4	8,9	–	–
CD34/кг трансплантата	до 2 клеток	2	4,2	5	17,2	8	30,8	20	19,2	13	28,9	1	20,0
	2-3,9 клетки	8	16,7	6	20,7	7	26,9	23	22,1	9	20,0	–	–
	4 -10	13	27,1	9	31,0	8	30,8	35	33,7	14	31,1	1	20,0
	более 10	25	52,1	9	31,0	3	11,5	26	25,0	–	20,0	–	60,0

Значимые различия ($p < 0,05$) между группами сравнения получены по таким факторам, влияющим на успешность мобилизации, как отсутствие восстановления гемопоэза до начала мобилизации, предпочтенность (четыре и более предшествующих мобилизации курсов ПХТ), наличие в предшествующем мобилизации протоколе терапии лучевого лечения, а также комбинации лучевого и оперативного лечения, проведение эскалации дозы Г-КСФ в режиме мобилизации. В группе НМ по сравнению с группой ДМ значимо преобладали пациенты с саркомой Юинга (45,3% против 21,8% соответственно). Подобные различия, вероятно, обусловлены особенностями основного протокола лечения данного ЗНО, согласно которому межблоковый перерыв между курсами ПХТ очень короткий – всего 14 дней. В связи с этим перед аферезом ГСК таким пациентам начинают мобилизацию ГСК на ранних сроках после окончания блока ПХТ – на 1-е или 2-е сутки от введения последнего агента. Кроме того, пациенты с саркомой Юинга часто получают предшествующее лучевое и оперативное лечение, что также может неблагоприятно влиять на успех мобилизации.

Комбинации режимов стимуляции продемонстрированы в таблице 14 и отражают результативность четырех вариантов мобилизации.

Таблица 14 – Применение протоколов мобилизации ГСК в зависимости от инициальных характеристик пациентов

Характеристика		Режим применения Г-КСФ							
		Г-КСФ в монорежиме		Г-КСФ + циклофосфамид		Г-КСФ + плериксафор		Г-КСФ + циклофосфамид + плериксафор	
Число пациентов		85		139		14		19	
Значение		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Пол	Муж.	41	48,2	78	56,1	7	50,0	4	21,1 *0,026 +0,004
	Жен.	44	51,8	61	43,9	7	50,0	15	78,9

Возрастная группа	До 1 года	–	–	5	3,6	–	–	1	5,3
	От 1 до 3 лет	15	17,6	51	36,7 *0,002	1	7,1 +0,019	3	15,8
	От 3 до 6 лет	14	16,5	32	23,0	2	14,3	4	21,0
	От 6 до 10 лет	21	24,7	17	12,2 *0,014	2	14,3	3	15,8
	От 10 до 15 лет	26	30,6	19	13,7 *0,002	8	57,2 +0,001	5	26,3
	От 15 до 18 лет	9	10,6	15	10,8	1	7,1	3	15,8
Вес	≤10 кг	3	3,5	18	12,9 *0,012	1	7,1	1	5,3
	10,1-15 кг	18	21,2	45	32,4 *0,048	1	7,1	4	21,0
	>15 кг	64	75,3	76	54,7 *0,001	12	85,8 +0,021	14	73,7
Диагноз	Эмбриональные нейрогенные опухоли	19	22,4	71	51,1 *0,00001	3	21,5 +0,031	5	26,3 +0,036
	Эмбриональные опухоли почек	1	1,2	11	7,9 *0,024	1	7,1	–	–
	Опухоли ЦНС	1	1,2	9	6,5	–	–	–	–
	Саркомы (костей и мягких тканей)	41	48,2	11	7,9 *0,00001	10	71,4 +0,00001	9	47,3 +0,0001
	Лимфомы	12	14,1	5	3,6 *0,005	–	–	–	–
	Герминогенно- клеточная опухоль	4	4,7	16	11,5	–	–	1	5,3
	Рабдоидные опухоли	4	4,7	10	7,2	–	–	3	15,8
	Другие	3	3,5	6	4,3	–	–	1	5,3
Стадия	I	2	2,4	3	2,2	–	–	–	–
	II	26	30,6	7	5,0 *0,00001	8	57,1 +0,00001	4	21,0 +0,029 #0,039
	III	11	12,9	25	18,0	2	14,3	1	5,3
	IV	46	54,1	104	74,8 *0,001	4	28,6 +0,001	14	73,7 #0,013

Продолжение таблицы 14

Предлечен- ный (3 и более курсов)	нет	22	25,9	43	30,9	–	–	1	5,3
	да	63	74,1	96	69,1	14	*0,022 +0,008	18	*0,040 +0,012
ЛТ	нет	69	81,2	112	80,6	9	64,3	11	57,9
	да	16	18,8	27	19,4	5	35,7	8	42,1 *0,035 +0,031
Восстанов- ление	нет	15	17,6	2	1,4 *0,00001	5	35,7 +0,0001	4	21,1 +0,002
	да	70	82,4	137	98,6	9	64,3	15	78,9
Инфекция		8	9,4	8	5,8	2	14,3	–	–
Эскалация дозы		19	22,4	29	20,9	8	57,1 *0,011 +0,006	11	57,9 *0,003 +0,001
Число токсичных препаратов	нет	1	1,2	2	1,4	–	–	–	–
	1	6	7,1	68	48,9 *0,00001	1	7,1 +0,002	9	47,4 *0,0001 #0,015
	2	12	14,1	63	45,4 *0,00001	3	21,5	10	52,6 *0,001
	3	53	62,3	4	2,9 *0,00001	9	64,3 +0,00001	–	– *0,00001 #0,0001
	4	13	15,3	2	1,4 *0,0001	1	7,1	–	–

Таблица 14 демонстрирует, что самый часто используемый режим мобилизации был в 139 протоколах мобилизации Г-КСФ совместно с циклофосфамидом, составили пациенты от 1 года до 3 лет – 51 пациент (36,7%) ($p=0,002$). По мере увеличения возраста чаще применялась комбинация Г-КСФ в монорежиме, и снижалось число пациентов в группе Г-КСФ + циклофосфамид – 17 (12,2%) ($p=0,014$). При оценке влияния на успешность мобилизации в комбинации Г-КСФ + циклофосфамид важны следующие данные : вес менее 10 кг – 18 пациентов (12,9%) ($p=0,012$); вес 10,1-15 кг – 45 пациентов (32,4%) ($p=0,048$); вес более 15 кг – 76 пациентов (54,7%) ($p=0,001$); также комбинацию Г-КСФ +

циклофосфамид применяли у пациентов с эмбриональными нейрогенными опухолями – 71 пациент (51,1%) ($p=0,00001$), пациентов с эмбриональными опухолями почек – 11 пациентов (7,9%) ($p=0,0024\%$), пациентов с диагнозами саркомы (костей и мягких тканей) – 11 пациентов (7,9%) ($p=0,00001$), с лимфомой – 5 пациентов (3,%) ($p=0,005$). IV стадия в рамках комбинации Г-КСФ + циклофосфамид – самая многочисленная – 104 пациента (74,8%) ($p=0,001$), но также статистически значимым является комбинация Г-КСФ + циклофосфамид + плериксафор у пациентов с IV стадией ЗНО – 14 пациентов (73,7%) ($p=0,013$). Основными статистически группами, включающими в мобилизацию плериксафор, были пациенты с предлеченностью (три и более курсов ПХТ) – 14 пациентов (100%) ($p=0,022$) в группе Г-КСФ + плериксафор и 18 пациентов (94,7%) ($p=0,040$). Только 8 пациентов (42,1%) ($p=0,035$), в анамнезе которых была ЛТ, получили плериксафор в комбинации с Г-КСФ + циклофосфамид.

Статистически значимо выше было число пациентов, получавших одновременно три токсичных химиопрепарата за курс – 53 пациента (62,3%). При этом меньшая миелотоксичность в виде одного токсического агента в одном блоке ПХТ значимо улучшала успешность мобилизации.

На момент окончания мобилизации необходима оценка прироста уровня СКК в периферической крови и трансплантате (Таблица 15).

Таблица 15 – Прирост уровня CD34+ клеток в периферической крови и трансплантате в зависимости от режима мобилизации

Характеристика	Режим применения Г-КСФ			
	Г-КСФ в монорежиме	Г-КСФ+ циклофосфамид	Г-КСФ+ плериксафор	Г-КСФ + циклофосфамид + плериксафор
	85	139	14	19
CD34+ конец мобилизации в периферической крови (%)	0,20 [0,09; 0,42]	0,50 [0,18; 1,20] *0,000004	0,10 [0,05; 0,26] +0,0002	0,20 [0,04; 1,01]

CD34+ конец мобилизации в периферической крови (кл/мкл)	51,3 [14,6; 117,4]	65,7 [30,9; 205,2] *0,006	17,1 [6,0; 44,0] *0,038 +0,001	45,0 [8,0; 351,0]
CD34+ клеток трансплантата общая клеточность ($n \times 10^6$)	98,7 [43,8; 239,3]	137,0 [59,5; 277,6]	57,2 [14,7; 165,3] +0,040	124,4 [27,7; 333,9]
CD34+ клеток трансплантата на кг ($n \times 10^6$ /кг)	4,1 [1,7; 8,3]	6,9 [3,1; 15,2] *0,001	2,4 [0,4; 4,8] +0,005	5,4 [1,7; 22,3]

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с Г-КСФ в монорежиме, $p < 0,05$, были в группе Г-КСФ + циклофосфамид ($p = 0,00004$), и пациенты в группе Г-КСФ + плериксафор ($p = 0,0002$); + – статистически значимые различия по сравнению с Г-КСФ + циклофосфамид, $p < 0,05$, по абсолютному значению СКК, по сравнению с другими группами, что демонстрирует более качественную мобилизацию; также в этой группе определен самый высокий средний уровень CD34+ клеток в трансплантате.

Частота успешных и эффективных мобилизаций на разных режимах мобилизации показана ниже (Таблица 16).

Таблица 16 – Частота успешных мобилизаций и эффективных аферезов от режима мобилизации ГСК

Характеристика	Режим применения Г-КСФ							
	Г-КСФ в монорежиме		Г-КСФ + циклофосфамид		Г-КСФ + плериксафор		Г-КСФ + циклофосфамид + плериксафор	
Число пациентов	85		139		14		19	
Значение	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Частота успешных мобилизаций	57	67,1	116	83,5 *0,004	7	50,0 +0,007	13	68,4
Частота эффективных аферезов	63	74,1	124	89,2 *0,003	7	50,0 +0,001	14	73,7

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с Г-КСФ в монорежиме, $p < 0,05$, продемонстрировали пациенты с режимом Г-КСФ + циклофосфамид в группе как успешной мобилизации у 116 пациентов (83,5%) ($p = 0,004$), так и в группе эффективных аферезов – 124 пациента (89,2%) ($p = 0,003$), что свидетельствует о более эффективном режиме мобилизации.

Данные по результатам применения разных режимов мобилизации в зависимости от возрастной группы представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Результаты применения разных режимов мобилизации в зависимости от возрастной группы

Характеристика	Возрастная группа					
	до 1 года	от 1 до 3 лет	от 3 до 6 лет	от 6 до 10 лет	от 10 до 15 лет	от 15 до 18 лет
Г-КСФ в монорежиме						
Число пациентов	–	15	14	21	26	9
Уровень СКК (%) в ПК в конце мобилизации	–	0,29 [0,11; 0,53]	0,38 [0,20; 0,84]	0,15 [0,03; 0,29] +0,016	0,19 [0,08; 0,42]	0,11 [0,07; 0,18] *0,043
Уровень СКК (абс.) в ПК в конце мобилизации	–	51,3 [14,9; 107,0]	102,6 [48,0; 170,8]	21,1 [10,6; 54,6] +0,019	65,7 [15,0; 176,8]	30,0 [14,6; 64,1]
CD34+ клеток трансплантата общий	–	54,4 [25,8; 110,6]	91,8 [39,3; 331,1]	59,0 [35,4; 107,2]	165,9 [64,0; 496,2] *0,010	169,8 [139,6; 418,5] *0,014
CD34+ клеток трансплантата на кг/массы тела пациента	–	6,7 [2,0; 12,5]	5,7 [2,6; 14,8]	2,6 [0,7; 4,9] *0,030 +0,024	3,3 [1,1; 10,4]	4,1 [2,4; 7,6]
Г-КСФ +циклофосфамид						
Число пациентов	5	51	32	17	19	15
Уровень СКК (%) в ПК в конце мобилизации	1,20 [0,10 ; 1,20]	0,70 [0,34; 1,60]	0,43 [0,18; 1,32]	0,67 [0,38; 1,24]	0,20 [0,08; 0,37] *0,00009 +0,015 #0,00004	0,14 [0,10; 0,25] *0,0002 +0,014 #0,0004
Уровень СКК (абс.) в ПК в конце мобилизации	77,4 [36,8 ; 87,8]	126,6 [49,3; 324,8]	61,4 [38,2; 165,3]	138,8 [57,0; 372,8] +0,033	46,3 [15,2; 79,5] *0,002 #0,0007	29,0 [14,0; 48,2] *0,001 +0,035 #0,0008

CD34+ клеток трансплантата общий	40,3 [22,0 ; 57,0]	111,3 [49,8; 262,7] °0,023	98,1 [60,4; 238,7] °0,031	232,5 [136,0; 406,3] °0,002 *0,012 +0,0009	144,9 [76,6; 401,0] °0,028	173,2 [124,7; 659,8] °0,007
CD34+ клеток трансплантата на кг/массы тела пациента	5,0 [2,9; 7,6]	9,4 [4,1; 19,9]	6,4 [3,4; 14,6]	8,2 [5,6; 18,4]	3,0 [1,9; 8,4] *0,003 #0,015	4,1 [2,6; 14,0] *0,040
Г-КСФ + плериксафор						
Число пациентов	–	1	2	2	8	1
Уровень СКК (%) в ПК в конце мобилизации	–	0,11	0,18 [0,08; 0,28]	0,13 [0,09; 0,17]	0,05 [0,04; 0,19]	0,26
Уровень СКК (абс.) в ПК в конце мобилизации	–	31,6	27,1 [10,2; 44,0]	26,0 [22,2; 29,7]	8,5 [3,6; 35,7]	87,8
CD34+ клеток трансплантата общий	–	40,9	50,5 [22,8; 78,2]	58,1 [14,0; 102,1]	44,1 [14,3; 218,6]	682,9
CD34+ клеток трансплантата на кг/массы тела пациента	–	4,6	3,4 [1,9; 4,8]	2,5 [0,7; 4,2]	1,1 [0,3; 4,1]	17,9
ГСК + циклофосфамид + плериксафор						
Число пациентов	1	3	4	3	5	6
Уровень СКК(%) в ПК в конце мобилизации	2,68	0,40 [0,12; 3,40]	1,01 [0,56; 1,68]	0,20 [0,03; 0,30]	0,05 [0,04; 0,20]	0,02 [0,01; 0,17]
Уровень СКК (абс.) в ПК в конце мобилизации	351,0	124,9 [11,5; 598,4]	380,4 [25,4; 735,0]	45,0 [8,04; 70,0]	24,4 [6,8; 68,0]	4,2 [2,4; 69,5]

Продолжение таблицы 17

CD34+ клеток трансплантата общий	220,8	166,0 [26,6; 563,9]	83,8 [40,7; 263,5]	187,0 [26,7; 775,5]	56,3 [33,8; 150,3]	27,7 [27,0; 333,9]
CD34+ клеток трансплантата на кг/массы тела пациента	24,5	11,0 [2,2; 36,1]	5,5 [2,6; 17,2]	6,6 [1,7; 86,1]	1,3 [1,1; 3,4]	5,4 [0,7; 6,4]

Примечание: ° – статистически значимые различия по сравнению с группой до 1 года, $p < 0,05$;
 * – статистически значимые различия по сравнению с группой 1–3 года, $p < 0,05$;
 + – статистически значимые различия по сравнению с детьми 3,1–6 лет, $p < 0,05$;
 # – статистически значимые различия по сравнению с детьми 6,1–10 лет, $p < 0,05$.

3.5 Оптимизации режима сепарации клеток в зависимости от уровня CD34+ клеток в день афереза

У пациентов с недостаточной мобилизацией технические процессы построены на более длительной процедуре афереза, вариабельностью скорости забора в зависимости от развития или отсутствия гиперкоагуляции и связанной с ней антикоагуляцией. При увеличении соотношения ACD-A и цельной крови (то есть эскалация от 12:1 до 10:1, 8:1 или 6:1) инициально скорость забора снижается в рамках сепарации. В рамках оптимизации афереза зачастую скорость забора на низком уровне антикоагуляции сохраняется, чтобы собрать за малое затраченное время больший объем клеточного продукта. Одним из вариантов оптимизации являлось увеличение скорости сбора клеток в таргетный контейнер с ГСК. В исследовании показана эффективность и безопасность данных режимов оптимизации.

Аферез считали успешным, когда собрано количество CD34+ клетки 2×10^6 /кг массы тела и более. Согласно вышеуказанным критериям оптимизации проведено 208 (80,9%) эффективных аферезов, 49 (19,1%) – не показали должной эффективности (Таблица 18).

Таблица 18 – Эффективность афереза гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от инициальных характеристик пациентов и режима мобилизации

Показатель	Частота успешных аферезов		р	Число больных
	абс.	%		
Пол:				
Мужской	109	83,9	0,148	130
Женский	99	78,0		127
Возраст				
До 1 года	5	83,3	0,0008	6
От 1 до 3 лет	65	92,9		70
От 3 до 6 лет	46	86,5		52
От 6 до 10 лет	34	79,1		43
От 10 до 15 лет	36	62,1		58
От 15 до 18 лет	23	82,1		28
Вес				
≤10 кг	20	87,0	0,049	23
10,1-15 кг	61	89,7		68
>15 кг	127	76,5		166
Диагноз:				
Эмбриональные нейрогенные опухоли:				
Нейробластома	86	87,8	0,119	98
Ретинобластома	76	89,4		85
Ганглионейробластома	7	70,0		10
Ганглионейробластома	3	100		3
Герминогенно-клеточная опухоль				
Атипичная тератоидно-рабдоидная опухоль	18	90,0	0,119	20
Опухоль	1	100		1
Эмбриональные опухоли почек (нефробластома)				
Опухоль центральной нервной системы (ЦНС):	11	84,6	0,119	13
Медуллобластома	9	90,0		10
Пинеобластома	4	80,0		5
Анапластическая эпендимома	2	100		2
Эмбриональная опухоль ЦНС	1	100		1
Диффузная лептоменингеальная глионейрональная опухоль	1	100		1

Продолжение таблицы 18

Саркомы (костей и мягких тканей):	45	63,4		71
Саркома Юинга	43	65,2		66
Саркомы мягких тканей	0	0		2
Низкодифференцированная крупноклеточная саркома	2	2		2
Светлоклеточная саркома почки	0	0		1
Лимфомы:	15	88,4		17
Лимфома Ходжкина	12	92,3		13
Неходжкинские лимфомы	3	75,0		4
Рабдоидные опухоли:	14	82,4		17
Рабдомиосаркома	11	78,6		14
Рабдоидная опухоль носоглотки параменингеальной локации	3	100		3
Другие опухоли:	9	90,0		10
Опухоль из клеток Сертоли и Лейдига	1	50,0		2
Нерабдоидная опухоль	1	100		1
Незрелая тератома	1	100		1
Параглиома забрюшинного пространства	1	100		1
Сиалобластома тканей	1	100		1
Назофарингиальный лимфо- эпителиоподобный рак	1	100		1
Опухоль желточного мешка	1	100		1
Нейропульмональная бластома	1	100		1
Параменингеальная назофарингеальная карцинома				
Стадия ЗНО				
I	3	60,0	0,002	5
II	28	62,2		45
III	33	84,6		39
IV	144	85,7		168
Поражение КМ				
нет	150	79,8	0,281	188
есть	58	84,1		69
Предшествующая ХТ (3 и более курсов):				
нет	60	90,9	0,010	66
да	148	77,5		191

Лучевая терапия				
нет	172	85,6	0,0006	201
да	36	64,3		56
Предшествующая терапия(не ХТ)				
нет	80	90,9	0,001	88
операция	92	81,4		113
ЛТ	11	64,7		17
Операция+ЛТ	25	64,1		39
Эффект лечения				
Полная регрессия	4	66,7	0,268	6
Частичная регрессия	29	80,6		36
Стабилизация	169	82,4		205
Прогрессирование	6	60,0		10
Восстановление гемопоэза				
нет	18	69,2	0,094	26
да	190	82,3		231
Инфекция				
нет	197	82,4	0,035	239
да	11	61,1		18
Режим мобилизации				
Г-КСФ в монорежиме	63	74,1	0,0004	85
Г-КСФ + циклофосфамид	124	89,2		139
Г-КСФ + плериксафор	7	50,0		14
Г-КСФ + циклофосфамид + плериксафор	14	73,7		19
Использование плериксафора				
нет	187	83,5	0,010	224
да	21	63,6		33
Доза плериксафора 0,12мкг	13	56,5	0,007	23
0,24 мкг	8	80,0		10
Момент старта мобилизации				
Старт мобилизации после 2-3 планового курса ПХТ в рамках протокола терапии с восстановлением гемопоэза	46	95,8	0,034	48
после 4 и более курсов ПХТ с восстановлением гемопоэза	24	82,8		29
после 2-3 планового курса ПХТ без восстановления гемопоэза	18	69,2		26

Продолжение таблицы 18

после оперативного вмешательства	84	80,8	0,034	104
после лучевой терапии	32	71,1		45
до лечения	4	80,0		5
Стартовая доза Г-КСФ для мобилизации, мкг/кг/сутки				
5	0	0	0,012	2
10	195	81,3		240
20	13	86,7		15
Эскалация дозы				
не было	165	86,8	0,00001	190
была	30	57,7		52
исходно эскалированная	13	86,7		15
Старт мобилизации				
Ранний	1	100	0,669	1
Средний	33	76,7		43
Поздний	174	81,7		213
Число токсичных препаратов в предшествующем курсе ХТ				
нет	2	66,7	0,029	3
1	76	90,5		84
2	71	80,7		88
3	46	69,7		66
4	13	81,3		16
Ответ на мобилизацию, дней				
нет	10	90,9	0,038	11
2-4 сут.	103	84,5		103
5 сут.	76	82,9		76
6-9 сут.	59	74,6		59
Более 10 сут.	8	50,0		8
Успешность мобилизации нет				
нет	25	39,1	0,00001	64
да	183	94,8		193

Из таблицы 18 видны следующие статистически значимые критерии влияющие на аферез ГСК:

- частота успешных аферезов выше в группе пациентов от 1 года до 3 лет, и представлена 70 пациентами, выполнивших 65 (92,9%) успешных аферезов ($p=0,0008$);

- частота успешных аферезов выше у пациентов с весом 10,1-15 кг, и представлена у 68 пациентов, выполнивших 61 (89,7%) успешных аферезов ($p=0,049$);
- варианты ЗНО не влияли на успех афереза;
- самой распространенной стадией ЗНО была IV. 168 пациентов выполнили 144 (85,7%) успешных аферезов ($p=0,002$). Это связано с тем, что все пациенты с IV стадией получили в рамках афереза и мобилизации не более 3 курсов ХТ в предшествующей терапии;
- также более успешным аферез был у пациентов, в анамнезе которых было три или менее курсов ПХТ, но при этом группа с предлеченностью также показала хороший результат, проведя 148 (57,58%) успешных аферезов у 191 (74,3%) пациента, что говорит о возможности адекватного сбора ГСК после длительного лечения;
- лучевая терапия, применяемая в терапии ЗНО, имеет негативное влияние на аферез, но даже ее наличие демонстрирует возможность успешного афереза ГСК у 36 пациентов из 56 ($p=0,0006$);
- оперативные вмешательства, применяемые в терапии ЗНО, имеют негативное влияние на аферез, но даже их наличие показывает возможность успешного афереза ГСК у 36 пациентов из 56 ($p=0,0006$);
- наличие инфекционных осложнений ухудшает успех афереза ($p=0,035$);
- самым эффективным режимом мобилизации с последующим аферезом является Г-КСФ + циклофосфамид и показывает успешность в 124 (89,2%) случаях у 139 пациентов ($p=0,0004$);
- только у половины пациентов удается достичь ответа на редуцированную дозу плериксафора, более эффективной является 0,24 мкг/кг у 8 (80,0%) из 10 пациентов ($p=0,007$).

Статистически значимые критерии афереза описаны в таблице 19.

- лучшие результаты сбора ГСК были при обработке менее двух ОЦК ($p=0,010$);
- постановка ЦВК в яремной вене показывает лучшие результаты ($p=0,037$), по сравнению с постановкой в бедренные вены, что может быть связано с изменением положения ЦВК при ходьбе;

- наличие гиперкоагуляции значительно не ухудшает качество афереза у 106 пациентов (76,3%) из 139 ($p=0,027$).

Таблица 19 – Частота успешных аферезов в зависимости от ряда характеристик афереза

Характеристики режимов афереза		Частота успешных аферезов		р	Число больных
		абс.	%		абс. %
Старт афереза от старта мобилизации	Ранний (1-3 дня)	13	81,3	0,228	16 6,2
	Средний (4-10 дней)	189	81,8		231 89,8
	Поздний	6	60,0		10 3,8
Вид трансплантации	Нет	23	81,1	0,869	28 10,8
	Тандем	17	85,0		20 7,78
	тгск	168	80,4		209 81,3
ОЦК	До 2	92	89,3	0,010	103 40,0
	2	11	64,7		17 6,6
	Больше 2	105	76,6		137 53,3
Тип СЕТ системы	10120	99	78,6	0,216	126 49,0
	10310	109	83,2		131 50,9
ЦВК	16/16	103	76,9	0,360	134 52,1
	16/18	55	79,7		69 26,8
	18/16	42	91,3		46 17,8
	18/20	1	100		1 0,38
	2-канальный 5F	5	100		5 1,94
	РICKLINE/16	1	100		1 0,38
	Периферический доступ/CERTO FIX16	1	100		1 0,38
Локализация ЦВК	яремная вена	46	93,9	0,037	49 19,0
	бедренная вена	154	77,8		198 77,0
	обе вены	8	80,0		10 3,8
Гиперкоагуляция	нет	102	86,4	0,027	118 45,9
	есть	106	76,3		139 54,1

Анализируя данные проведенных мобилизаций и аферезов ГСК, нами выявлена частота успешных аферезов в зависимости от ряда характеристик (Таблица 19). Видно, что частота успешных аферезов зависит от: обработанного ОЦК ($p=0,010$); от локализации ЦВК ($p=0,037$); от факта развития

гиперкоагуляции ($p=0,027$). В зависимости от успешности афереза, нами проведено разделение клеточностей трансплантата на один килограмм массы тела больного на 4 группы (Таблица 20), где в зависимости от клеточности трансплантата проведен анализ всех технических параметров афереза.

Таблица 20 – Число CD34+ в трансплантате в зависимости от лабораторных характеристик и технических параметров афереза

Характеристики афереза	CD34×10 ⁶ /кг				Всего
	до 2×10 ⁶ /кг	2-3,9×10 ⁶ /кг	4-10×10 ⁶ /кг	более 10×10 ⁶ /кг	
	49	53	80	75	257
Итоговое время процедуры (мин.)	304 [245; 367]	266 [198; 338]	257 [192,5; 344,5] *0,024	197,0 [166; 264] *0,000001 +0,0005 #0,002	254 [190; 338]
Итоговый объем (мл)	180 [120; 300]	140 [80; 240]	120,0 [77,5; 220,0] *0,013	105 [60; 200] *0,003	130 [80; 250]
TNC трансплантата общий (n×10⁹/кг)	12,9 [7,8; 22,5]	11,1 [6,1; 28,2]	12,4 [7,0; 27,4]	13,1 [7,7; 37,4]	12,3 [7,2; 28,2]
TNC трансплантата на кг (n×10⁸/кг)	4,8 [2,6; 6,2]	5,0 [3,8; 6,6]	6,1 [4,5; 9,5] *0,0006 +0,014	7,7 [5,0; 9,5] *0,00001 +0,0004	5,8 [4,2; 8,8]
CD34+ трансплантата общий (n×10⁶)	22,8 [14,7; 37,5]	64,00 [38,3; 131,4] *0,0000001	109,7 [75,8; 199,6] *0,0000001 +0,00006	402,6 [235,0; 695,8] *0,0000001 +0,0000001 #0,0000001	111,3 [46,5; 276,4]
CD34+ трансплантата на кг (n×10⁶/кг)	0,9 [0,5; 1,3]	2,7 [2,4; 3,0] *0,0000001	6,2 [4,8; 7,6] *0,0000001 +0,0000001	19,4 [14,2; 26,3] *0,0000001 +0,0000001 #0,0000001	5,1 [2,6; 12,7]
Тромбоциты в трансплантате (n×10⁹/л)	340 [216; 693]	509 [287; 701] *0,041	490 [255; 839] *0,037	539 [342; 884] *0,003	453 [263; 802]
Лейкоциты трансплантата (n×10⁹/л)	79,4 [44,3; 122,0]	89,5 [60,0; 137,2]	112,4 [84,4; 154,7] *0,0006 +0,030	132,2 [83,3; 179,0] *0,00002 +0,0006	110,0 [70,0; 148,9]

Гемоглобин в конце процедуры у пациента (г/л)	98 [91; 109]	99 [94; 106]	100 [94,5; 110]	98 [92; 104]	99 [93; 109]
Тромбоциты в конце процедуры у пациента ($n \times 10^9/\text{л}$)	98 [58; 147]	132 [81; 192] *0,016	134,5 [69; 253] *0,005	140 [94; 275] *0,0008	129 [73; 210]
Скорость потока АСД-А в систему (начало) мл/мин	2,1 [1,3; 3,0]	1,7 [1,1; 2,7]	1,3 [1; 2,6] *0,010	1,2 [1; 2,3] *0,005	1,5 [1,0; 2,6]
Скорость потока АСД-А в систему (конец) мл/мин	2,2 [1,5; 3,0]	1,7 [1,2; 2,7]	1,3 [1; 2,6] *0,001 +0,047	1,3 [1; 2,3] *0,0004 +0,028	1,5 [1,1; 2,7]
Скорость потока АСД-А пациенту (начало) мл/мин	0,9 [0,8; 1,0]	0,9 [0,8; 1,0]	0,9 [0,8; 1,0]	0,9 [0,8; 1,0]	0,9 [0,8; 1,0]
Скорость потока АСД-А пациенту (конец) мл/мин	0,9 [0,8; 1,1]	0,9 [0,8; 1,0]	0,9 [0,8; 1,1]	0,9 [0,8; 1,1]	0,9 [0,8; 1,1]
Технические параметры афереза					
СКОРОСТЬ ЗАБОРА (мл/мин.)	21,4 [14,5; 30,5]	17,1 [11,9; 30,8]	14,6 [10,7; 30,0] *0,010	12,4 [10,0; 21,5] *0,0007 +0,032	15,8 [11,1; 30,0]
СКОРОСТЬ ЗАБОРА КОНЕЦ (мл/мин.)	19,0 [13,0; 30,0]	15,5 [10,6; 29,9]	13,7 [10,0; 26,0] *0,016	11,9 [10; 21,5] *0,003	15,0 [10,0; 28,7]
ОБРАБОТАНО ОЦК	2,6 [2,0; 3,2]	2,3 [1,8; 3,0]	2,4 [1,8; 3,2]	1,8 [1,5; 2,3] *0,00002 +0,0006 #0,0001	2,2 [1,7; 3,0]
ОБРАБОТАНО ОЦК МЛ	5440 [3143; 8663]	3839 [2239; 10455]	2864,5 [1784; 7724] *0,004	2110 [1581; 5196] *0,000003 +0,001 #0,024	3399 [1791; 7799]

Продолжение таблицы 20

СКОРОСТЬ СБОРА СКК (мл/мин.)	0,9 [0,8; 1,0]	0,8 [0,8; 1,0] *0,038	0,8 [0,7; 1,0] *0,017	0,8 [0,7; 0,9] *0,003	0,8 [0,7; 1,0]
СКОРОСТЬ ПОТОКА ПЛАЗМЫ (мл/мин.)	16,1 [9,4; 18,2]	11,0 [6,8; 16,8]	9,5 [6,3; 17,6] *0,022	7,5 [6,1; 13,7] *0,0002 +0,029	10,0 [6,4; 17,5]
ОБЪЕМ (мл)	60,0 [0; 100]	60 [20; 100]	40,0 [0; 100]	20 [0; 60] *0,032 +0,005	40 [0; 100]
ТНС ОБЩИЙ ($n \times 10^9$/кг)	4,9 [0; 8,2]	4,9 [1,8; 10,5]	4,2 [0; 10,2]	2,2 [0; 8]	3,9 [0; 9,8]
ТНС НА КГ ($n \times 10^9$/кг)	1,7 [0; 3,0]	1,8 [0,7; 3,2]	1,9 [0; 4,8]	1,4 [0; 3,9]	1,8 [0; 3,7]
Граница раздела на старте	20 [20; 20]	20 [20; 20]	20 [20; 20]	20 [20; 20]	20 [20; 20]
Граница раздела на окончании	30 [28; 33]	30 [30; 33]	30 [30; 33]	30 [27; 32]	30 [29; 33]

Примечание: * – статистически значимые различия в сравнении с группой CD34+ до 2×10^6 /кг, $p < 0,05$; + – статистически значимые различия в сравнении с группой 2– $3,9 \times 10^6$ /кг, $p < 0,05$; # – статистически значимые различия в сравнении с группой 4– 10×10^6 /кг, $p < 0,05$.

3.6 Разработка методики расчета прогноза вероятности успешной мобилизации и афереза у детей

Для разработки индивидуализированного протокола выделена группа пациентов по ответу на терапию основного заболевания, так как этот этап имеет принципиальное значение в тактике мобилизации и афереза ГСК.

Для разработки индивидуализированного протокола мобилизации и сбора ГСК у детей с ЗНО мы провели многофакторный регрессионный анализ. На момент мобилизации в качестве прогнозируемого параметра рассматривали успешность мобилизации по наличию в цельной крови в день афереза более CD34+ клеток в периферической крови 20 кл/мкл CD34+ клеток.

Факторы, влияющие на успешность мобилизации, выявляли методом биномиальной логистической регрессии. Проводили одно- и многофакторный регрессионный анализ.

Ранее были выделены значимые неблагоприятные факторы для успешной мобилизации факторы: более старший возраст более 15 лет, больший вес более 15 кг, наличие более 3 курсов ХТ, проведение ЛТ, отсутствие восстановления лейкоцитарного и тромбоцитарного ростков кроветворения на момент старта мобилизации, эскалация дозы стимулирующего агента, использование плериксафора, поздний ответ на мобилизацию.

Все значимые при однофакторном анализе параметры включили в многофакторный анализ.

В результате проведения многофакторного регрессионного анализа, выполненного методом пошагового исключения, значимыми независимыми прогностическими факторами для успешной мобилизации стали: увеличение возраста от 10 лет, проведение в анамнезе трех и более курсов ПХТ и ЛТ. При таких данных вероятность удачной мобилизации снижается 25-30%.

Для каждого из трех независимых факторов риска были получены коэффициенты, которые были использованы для вычисления вероятности удачной мобилизации:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}, \text{ где} \quad (1)$$

p – вероятность удачной мобилизации;

e – основание натуральных логарифмов, равное 2,71...;

$z = 2,705 - 0,007 \times \text{возраст} - 0,946 \times \text{предлеченность} - 0,669 \times \text{ЛТ}$.

P принимает значение от где 0 – нет до 1 – да. При $p \leq 0,5$ пациент относится к группе с низкой вероятностью удачной мобилизации, при $p > 0,5$ – к высокой вероятности.

Частота корректно прогнозируемых с помощью этой модели случаев – 77% ($n=179$).

Зная вероятность успешной мобилизации, можно влиять на нее путем изменения протокола проведения. Ранее доказано, что проведение мобилизации при достижении восстановления, по возможности проведение мобилизации

до начала химиотерапии и лучевой терапии, отказ от применения плериксафора и эскалации дозы стимулирующих агентов положительно влияют на качество мобилизации. Следовательно, можно подобрать индивидуальные параметры проведения мобилизации для каждого ребенка.

Вероятность успешного афереза также может быть рассчитана математически.

Факторы, влияющие на успешность афереза, выявляли методом биномиальной логистической регрессии. Проводили одно- и многофакторный регрессионный анализ (Таблица 21).

Таблица 21 – Однофакторный регрессионный анализ (n=257)

Фактор		Успешность афереза, 208 (80,9%)		
		Отношение шансов	95%CI	p
Статистические критерии				
Пол		0,681	0,364-1,276	0,681
Возраст, лет		0,993	0,988-0,998	0,005
Вес, кг		0,985	0,971-0,999	0,044
Диагноз		0,938	0,815-1,079	0,372
Стадия заболевания		1,792	1,277-2,515	0,001
Поражение костного мозга		1,336	0,640-2,789	0,441
Предлеченность (3 и более курсов)		0,344	0,139-0,851	0,021
Лучевая терапия		0,303	0,155-0,595	0,001
Эффект лечения		0,975	0,522-1,823	0,938
Восстановление гемпоэза		2,060	0,839-5,059	0,115
Инфекция		0,335	0,123-0,915	0,033
Уровни показателей на старте афереза	Тромбоциты	1,006	1,002-1,009	0,004
	Лейкоциты	1,031	1,005-1,058	0,020
	Гемоглобин	1,008	0,985-1,032	0,475
	СКК %	32814,956	615,086-1750682,880	0,000001
	СКК абсолют	0,060	1,038-1,0836	0,0001
	Фибриноген	1,751	0,994-3,084	0,053
Объем циркулирующей крови		1,00001	1,000-1,000	0,035
Гиперкоагуляция		0,504	0,261-0,971	0,041

Режим мобилизации	ГСК в монорежиме	1		0,001
	+ циклофосфамид	1,023	0,330-3,168	0,996
	+ плериксафор	2,952	0,932-9,354	0,066
	Циклофосфамид + плериксафор	0,357	0,083-1,542	0,168
Использование плериксофора		0,346	0,157-0,765	0,009
Старт мобилизации (дней от блока)		1,008	0,969-1,048	0,703
Этап начала мобилизации	Старт мобилизации после 2-3 планового курса ПХТ в рамках протокола терапии с восстановлением гемопоэза	1		0,080
	после 4х и более курсов ПХТ с восстановлением гемопоэза	5,750	0,423-78,104	0,189
	после 2-3 планового курса ПХТ без восстановления гемопоэза	1,200	0,110-13,146	0,881
	после оперативного вмешательства	0,563	0,054-5,864	0,630
	после лучевой терапии	1,050	0,111-9,912	0,966
	до лечения	0,615	0,063-6,041	0,677
	Стартовая доза Г-КСФ для мобилизации		1,101	0,924-1,312
Эскалация дозы		0,271	0,141-0,522	0,0001
Число токсичных химиопрепаратов		0,663	0,475-0,925	0,016
Ответ на мобилизацию, день		0,802	0,683-0,942	0,007
Успешность мобилизации		28,548	12,690-64,221	0,00001
Старт афереза от старта мобилизации		0,575	0,209-1,582	0,284
Биопроба эритроцитной взвесью		0,296	0,126-0,691	0,005
Локализация ЦВК		0,422	0,196-0,906	0,027
Итоговое время процедуры		0,995	0,992-0,998	0,001
Итоговый объем		0,997	0,995-0,999	0,030
Клеточная характеристика трансплантата				
WBC трансплантата		1,013	1,006-1,020	0,0001
PLT трансплантата		1,001	1,0001-1,002	0,006
TNC трансплантата общий		1,011	0,993-1,030	0,236
TNC трансплантата на кг		1,205	1,078-1,346	0,001
Уровень CD34+ клеток трансплантата общий		1,055	1,036-1,075	0,0001

Уровень CD34+ клеток трансплантата на кг	–		
ОБРАБОТАНО ОЦК	0,630	0,428-0,928	0,019
ОБРАБОТАНО ОЦК МЛ	1,0001	1,00001-1,00002	0,014
Гемоглобин в конце процедуры афереза у пациента	1,005	0,979-1,031	0,722
Тромбоциты в конце процедуры афереза у пациента	1,006	1,002-1,010	0,002
Технические характеристики афереза			
Скорость потока АСД-А в систему (начало) мл/мин	0,732	0,555-0,967	0,028
Скорость потока АСД-А в систему (конец) мл/мин	0,688	0,524-0,904	0,007
Скорость потока АСД-А пациенту (начало) мл/мин	0,753	0,347-1,633	0,473
Скорость потока АСД-А пациенту (конец) мл/мин	0,680	0,322-1,436	0,312
Скорость забора цельной крови (начало афереза)	0,973	0,948-0,998	0,038
Скорость забора цельной крови (конец афереза)	0,977	0,952-1,003	0,088
Скорость сбора СКК	0,690	0,336-1,414	0,311
Скорость потока плазмы	0,950	0,910-0,993	0,022
Объем итогового продукта	0,998	0,993-1,002	0,341
TNC ОБЩИЙ	1,004	0,971-1,038	0,818
TNC НА КГ	1,120	0,979-1,282	0,100

Таким образом, значимыми неблагоприятными факторами для успешного афереза стали: более старший возраст (более 15 лет); больший вес (более 15 кг); начальные стадии заболевания (I и II); наличие в анамнезе большого числа ХТ курсов (более 3); проведение лучевой терапии; наличие инфекционного процесса (очаг инфекции, сепсис); низкий уровень тромбоцитов (менее $50 \times 10^9/\text{л}$ и лейкоцитов менее $10 \times 10^9/\text{л}$ в периферической крови в день афереза; низкий уровень СКК на старте; низкий ОЦК; гиперкоагуляция; использование плериксафора; эскалация дозы стимулирующего агента Г-КСФ при мобилизации; число токсичных препаратов; поздний ответ на мобилизацию; неуспешная мобилизация.

Из технических параметров процедуры принципиальными для успешного афереза являются: локализация ЦВК (часто меняется положение дистального конца ЦВК в зависимости от движения); более 140 минут итоговое время процедуры; большой итоговый объем клеточного продукта (более 200 мл); увеличение кратности обработанного ОЦК (более 2,0); повышенная скорость потока АСД-А в систему (на начале процедуры афереза), мл/мин; высокая скорость забора цельной крови; высокая скорость потока плазмы (все ранее указанные параметры варьируются в зависимости от антропометрических показателей пациентов).

Все значимые при однофакторном анализе параметры включили в многофакторный анализ.

В результате проведения многофакторного регрессионного анализа, выполненного методом пошагового исключения, значимыми независимыми прогностическими факторами для успешного афереза стали следующие факторы (Таблица 22).

Таблица 22 – Результаты многофакторного логистического регрессионного анализа успешности афереза

Критерий	Оценка параметра	Стандартная ошибка	Chi-квадрат Вальда	Достигнутый уровень значимости	Отношение шансов	95% ДИ для отношения шансов	
						нижняя	верхняя
Инфекция (0/1)	-1,785	0,731	5,961	0,015	0,168	0,040	0,703
Стадия (1, 2, 3, 4)	0,627	0,238	6,944	0,008	1,872	1,174	2,985
Тромбоциты на старте	0,005	0,002	4,384	0,036	1,005	1,0001	1,010
Успешность мобилизации (0/1)	3,455	0,462	55,899	0,0001	31,653	12,796	78,296
Константа	-3,101	0,927	11,178	0,001	0,045		

Для каждого из четырех независимых факторов риска были получены коэффициенты, которые были использованы для вычисления вероятности удачного афереза:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}, \text{ где} \quad (2)$$

p – вероятность удачного афереза;

e – основание натуральных логарифмов, равное 2,71...;

$z = -3,101 - 1,785 \times \text{инфекция} + 0,627 \times \text{стадия} + 0,005 \times \text{тромбоциты на старте афереза} + 3,455 \times \text{успешность мобилизации}$.

P принимает значение от 0 до 1, где 0 – нет и 1 – да. При $p \leq 0,5$ – пациент относится к группе с низкой вероятностью удачного афереза, при $p > 0,5$ – к высокой вероятности.

Частота корректно прогнозируемых с помощью данной модели случаев – 87,2% ($n=224$ афереза). Зная вероятность успешного афереза, можно влиять на его достижение путем изменения технических характеристик сбора, таких как: повышенная скорость потока АСД-А в системе (на начале процедуры афереза), мл/мин; высокая скорость забора цельной крови; высокая скорость потока плазмы.

3.7 Алгоритм мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей со злокачественными новообразованиями

Результаты проведенного исследования показали достаточную эффективность применяемого в ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина протокола мобилизации и афереза ГСК. Все же имеет место наличие небольшого числа неэффективных мобилизаций и повторных аферезов. Каждый пациент уникален. Индивидуальные характеристики соматического и инфекционного статуса пациента, характеристики ЗНО и его терапия, все эти параметры определяют индивидуальные особенности, которые в любой момент могут изменить стандартный протокол проведения стимуляции лейкопоза и сбора ГСК. В связи с этим на основании выявленных факторов, влияющих на эффективность мобилизации и афереза ГСК, алгоритм выстроен по следующему принципу (Рисунок 7):

Для стратификации пациентов разработано шесть вариантов стимуляции гемопоэтических стволовых клеток, сформированных на анализе данных 257 режимов мобилизации (Таблицы 23-28).

Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза № 1 представлена в таблице 23.

Таблица 23 – Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза с восстановленным лейкоцитарным ростком и без интенсивной химиотерапии в анамнезе № 1

Характеристика пациента	Ребенок 0-18 лет с диагнозом ЗНО согласно протоколу терапии осуществляет мобилизацию гемопоэтических стволовых клеток на восстановлении гемопоэза и сбор ГСК после окончания 2-го или 3-го курса ПХТ, без лучевой терапии и оперативного вмешательства
Лейкоциты на старте мобилизации	$1,0 \times 10^9$ /л и более
Нейтрофилы на старте мобилизации	$0,5 \times 10^9$ /л и более
Стартовая доза Г-КСФ, мкг/кг	10 мкг/кг ежедневно подкожно
Контроль ИФТ ГСК в ПК	+3 день мобилизации контроль CD34+ клеток
Ожидаемый результат мобилизации	+3 день CD34+ клеток (%) более 0,1-0,2% и CD34 более 20 кл/мкл
Продолжение стимуляции до 4-5 дня в дозе 10 мкг/кг в сутки	
Аферез	на +4 или +5 сутки от начала стимуляции (решение принимается после оценки данных веса и данных о виде ТГСК)

Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза № 2 представлена в таблице 24.

Таблица 24 – Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза с восстановленным лейкоцитарным ростком с 3 курсами химиотерапии в анамнезе № 2

Характеристика пациента	Ребенок 0-18 лет с диагнозом ЗНО согласно протоколу терапии осуществляет мобилизацию гемопоэтических стволовых клеток на восстановлении гемопоэза и сбор ГСК после окончания 3-х курсов ПХТ, без лучевой терапии и оперативного вмешательства
Лейкоциты на старте мобилизации	$1,0 \times 10^9$ /л и более
Нейтрофилы на старте мобилизации	$0,5 \times 10^9$ /л и более
Стартовая доза Г-КСФ, мкг/кг	10 мкг/кг ежедневно подкожно
Контроль ИФТ ГСК в ПК	+3 день контроль CD34+клеток (+4 день и далее при условии эскалации дозы Г-КСФ)
Ожидаемый результат мобилизации	+3 день CD34+ клеток (%) более 0,1-0,15% и CD34+клеток более 15-20 кл/мкл
Продолжение стимуляции до 4-5-6 дня в дозе 10 мкг/кг в сутки или вероятно с +3 дня потребуются эскалация дозы Г-КСФ до 20 мкг/кг в сутки, при условии, если к +3 дню уровень абсолютного числа CD34+ клеток менее 15 кл/мкл	
Аферез	обычно +5 или +6 день (решение принимается после оценки данных веса и данных о виде ТГСК или клеточной поддержке)

Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза № 3 представлена в таблице 25.

Таблица 25 – Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза без восстановленного лейкоцитарного ростка № 3

Характеристика пациента	Ребенок 0-18 лет с диагнозом ЗНО согласно протоколу терапии осуществляет мобилизацию гемопоэтических стволовых клеток без достижения полного восстановления гемопоэза и сбор ГСК после окончания 2-го или 3-го курса планового ПХТ, без лучевой терапии и оперативного вмешательства
-------------------------	--

Лейкоциты на старте мобилизации	Менее $0,8 \times 10^9/\text{л}$
Нейтрофилы на старте мобилизации	Менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$
Стартовая доза Г-КСФ, мкг/кг	10 мкг/кг ежедневно подкожно, далее эскалация до 20 мкг/кг при отсутствии ответа на мобилизацию к 4-5 дню от стимуляции
Контроль ИФТ ГСК в ПК	при восстановлении уровня WBC более 2×10^9 (обычно на 4-5 день стимуляции) контроль CD34+ клеток
Ожидаемый результат мобилизации	+4-5 день CD34+ клеток (%) более 0,1-0,15% и CD34+ клеток более 20кл/мкл, если данных значений не достигнуто, эскалация дозы Г-КСФ до 20 мкг/кг
Продолжение стимуляции до 6-7 дня в дозе 20 мкг/кг в сутки	
Аферез	на +6 или +7 сутки от начала стимуляции (решение принимается после оценки данных веса и данных о виде ТГСК и контрольного ИФТ ГСК н +6 день)

Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза № 4 представлена в таблице 26.

Таблица 26 – Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза после оперативного вмешательства № 4

Характеристика пациента	ребенок 0-18 лет с диагнозом ЗНО согласно протоколу терапии осуществляет мобилизацию гемопоэтических стволовых клеток и сбор ГСК после окончания 2-го или 3-го курса ПХТ с этапом оперативного вмешательства
Лейкоциты на старте мобилизации	Строго более $1,0 \times 10^9/\text{л}$
Нейтрофилы на старте мобилизации	Строго более $0,5 \times 10^9/\text{л}$
Стартовая доза Г-КСФ, мкг/кг	10 мкг/кг ежедневно подкожно
Контроль ИФТ ГСК в ПК	+3 день контроль CD34+ клеток

Ожидаемый результат мобилизации	+3 день CD34+ клеток (%) более 0,2-0,5% и CD34+ клеток более 20-30 кл/мкл
Продолжение стимуляции до 4-5 дня в дозе 10 мкг/кг в сутки	
Аферез	на +4 или +5 сутки от начала стимуляции (решение принимается после оценки данных веса и данных о виде ТГСК)
Комментарии	После оперативного этапа требуется полное восстановление гемопоэза ребенка и восстановление операционной раны, важно отсутствие инфекционных очагов

Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза № 5 представлена в таблице 27.

Таблица 27 – Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза после оперативного вмешательства и лучевой терапии № 5

Характеристика пациента	ребенок 0-18 лет с диагнозом ЗНО согласно протоколу терапии осуществляет мобилизацию гемопоэтических стволовых клеток на нестабильном гемопоэзе и сбор ГСК после окончания 3-х и более курсов ПХТ, с лучевой терапией и возможно оперативного вмешательства
Лейкоциты на старте мобилизации	менее или равно $1,0$ (обычно $0,5-0,6$) $\times 10^9$ /л
Нейтрофилы на старте мобилизации	менее или равно $0,5 \times 10^9$ /л
Стартовая доза Г-КСФ, мкг/кг	10 или 20 мкг/кг ежедневно подкожно
Контроль ИФТ ГСК в ПК	+4-6 день контроль CD34+ клеток
Ожидаемый результат мобилизации	+4-6 день CD34+ клеток (%) 0,1-0,15% и CD34+ клеток более 10-15 кл/мкл

Продолжение стимуляции до 4-5-6 дня в дозе 20 мкг/кг в сутки или вероятно потребуется введение Плериксафора в дозе 0,12 мкг/кг или 0,24 мкг/кг за 12 часов до афереза. В день афереза введение Г-КСФ 20 мкг/кг перед процедурой афереза	
Аферез	обычно +6 или +7 день, решение итоговое принимается после оценки данных веса и данных о виде ТГСК или клеточной поддержке

Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза № 6 представлена в таблице 28.

Таблица 28 – Модель пациента перед процедурой мобилизации и афереза без предварительной терапии № 6

Характеристика пациента	ребенок 0-18 лет с диагнозом ЗНО, предполагается проведение интенсивной ПХТ с включением алкилирующих агентов, антрациклиновых антибиотиков, лучевая терапия иммунная или таргетная терапия
Лейкоциты на старте мобилизации	более $3,0 \times 10^9/\text{л}$
Нейтрофилы на старте мобилизации	Более $2,5 \times 10^9/\text{л}$
Стартовая доза Г-КСФ, мкг/кг	10 мкг/кг ежедневно подкожно
Контроль ИФТ ГСК в ПК	+3 день контроль CD34+клеток
Ожидаемый результат мобилизации	+3 день CD34+ клеток (%) более 0,2-0,5% и CD34+ клеток более 20-30 кл/мкл
Продолжение стимуляции до 4-5 дня в дозе 10 мкг/кг в сутки (часто аферез на 3-4 день от старта стимуляции)	
Аферез	на +4 или +5 сутки от начала стимуляции (решение принимается после оценки данных веса и данных о виде ТГСК)

Несмотря на наличие шести возможных вариантов мобилизации, остаются пациенты $n=38$ (14,78%), которые не могут быть стратифицированы ни в один из вариантов стимуляции, их необходимо рассматривать как отдельную группу.

В период мобилизации ГСК зачастую можно столкнуться с невозможностью выполнения мобилизации и афереза согласно представленным вариантам в таблицах 23-28, так как на фоне стимуляции могут быть развернуты несколько лабораторных состояний, требующих индивидуального подхода:

- на фоне мобилизации ГСК к +4-5 дню отмечается выраженное повышение лейкоцитов больше или равно $20 \times 10^9/\text{л}$, при этом сохраняется низкий уровень CD34+ клеток менее 10 кл/мкл в периферической крови. Сбор ГСК у таких детей должен осуществляться с соблюдением ряда технических особенностей работы сепаратора $n=26$ (10,1%);

- на фоне мобилизации ГСК к +4-5 дню отмечается отсутствие прироста лейкоцитов менее или равное $5 \times 10^9/\text{л}$, но при этом высокий уровень CD34+ клеток более $10-15 \times 10^6$ кл/мкл. Этой категории детей также должен быть проведен аферез ГСК $n=4$ (1,5%);

- на фоне мобилизации ГСК на дозе Г-КСФ 10 мкг/кг/сут не отмечается увеличение уровня лейкоцитов и CD34+ клеток к +3 дню. Этой категории больных проводится эскалация дозы Г-КСФ с третьего дня до 20 мкг/кг/сутки и следует продолжение стимуляции до седьмого дня с контролем уровня CD34+ клеток с +4 дня ежедневно или через день (при возможности не нарушать тайминг терапии). Вероятность проведения афереза с 7-12 дня $n=8$ (10,1%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время ВДХТ с последующей реинфузией аутологичных ГСК остается общепринятым этапом консолидации ремиссии ряда ЗНО после основного курса лечения [76]. Качество аутологичного трансплантата (его клеточный состав) имеет ключевое значение для обеспечения своевременного восстановления показателей крови для проведения эффективной терапии по протоколу ауто-ТГСК [127]. Низкое качество трансплантата, полученного в результате неэффективной мобилизации, невозможность проведения афереза ГСК в связи с неэффективной мобилизацией или в результате возникших технических сложностей при проведении заготовки ГСК из периферической крови методом цитафереза клеточным сепаратором, вынуждает отказываться от этапа ауто-ТГСК, что снижает показатели выживаемости больных [1, 3, 10, 11, 34].

Особую группу пациентов, нуждающихся в данном виде терапии, составляют дети, анатомо-физиологические особенности которых влияют как на течение основного заболевания, так и создают ряд трудностей для проведения терапии ЗНО и при попытках мобилизации ГСК с последующим их аферезом [1]. Мобилизация ГСК у детей начинается, как правило, на 14-й день от начала ХТ. Стартовая доза Г-КСФ составляет 5 мкг/кг для детей весом до 10 кг, и 7-10 мкг/кг для детей весом более 10 кг [4, 31]. На момент первого сеанса афереза пациенты в среднем получают от 1 до 5 курсов ХТ, что также сказывается на эффективности мобилизации [75].

Проблема эффективности мобилизации ГСК является важной задачей для ряда трансплантационных центров, обеспечивающих возможность проведения терапии по протоколу ауто-ТГСК. В современной клинической практике открытым остается вопрос об оптимальном режиме мобилизации и оптимизации технических параметров сепарации ГСК. Современные методики мобилизации, зачастую, не показывают высокой результативности, что требует внедрения новых схем стимуляции ГСК в клиническую практику. На сегодняшний день из имеющихся вариантов схем мобилизации наиболее часто применяются следующие: мобилизация Г-КСФ в монорежиме, Г-КСФ в комбинации с ХТ и дополнительным применением антагониста рецептора CXCR4. Данные режимы

способны оптимизировать мобилизацию и обеспечить пациенту высокую клеточность трансплантата после процедуры афереза. Подходы к сбору ГСК, также должны быть индивидуализированы для конкретного больного, с целью афереза достаточного количества CD34+ клеток в итоговом продукте за 1 процедуру афереза. Согласно данным литературы, большинство педиатрических пациентов в ответ на мобилизацию ГСК достигают целевых значений CD34+ клеток, хотя остается значительная часть детей, которым необходимо проведение повторных режимов стимуляции и повторных процедур афереза ГСК [99].

Дефицит исследований сравнительного анализа результатов мобилизации и процедур афереза у детей в зависимости от факторов, связанных не только с заболеванием и видом терапии, но и с анатомо-физиологическими особенностями детей в разные возрастные периоды не позволяет подходить к данному этапу терапии с должной индивидуализацией.

К сожалению, не всегда удается прогнозировать эффективность мобилизации и процедуры афереза ГСК из периферической крови у детей. Ранее подобные исследования проводились во взрослой когорте пациентов с различными видами лимфом и множественной миеломой [3, 9, 20, 25, 79, 71]. У детей с различными ЗНО сравнивали эффективность режимов мобилизации с использованием Г-КСФ в монорежиме и с предшествующей ХТ [4, 10, 31, 89]. Среди пациентов детского возраста подобные исследования в нашей стране единичны [1, 10, 11].

Наиболее крупное исследование данной проблемы было опубликовано в 2013 году испанскими онкогематологами. В нем проведен анализ результатов мобилизаций ГСК у 179 детей с различными ЗНО. Средний возраст пациентов составил 7 лет (от 6 мес. до 18 лет), а средний вес 23 кг (5-44 кг). В результате авторами были получены данные о влиянии на эффективность мобилизации проведенной ранее ЛТ, низкой дозы Г-КСФ и предлеченности пациента [52]. Сложности сбора ГСК из периферической крови из-за предлеченности и проведенной ЛТ также были отмечены и другими авторами [123].

Несмотря на большой гемопоэтический потенциал у детей в сравнении со взрослыми пациентами, значительная часть из них нуждается в проведении

повторных попыток мобилизаций и процедур афереза [99, 156]. Это создает ряд сложностей в связи с необходимостью проведения попыток мобилизации в межблоковые промежутки, которые при некоторых протоколах ПХТ могут составлять до 14 дней. А соответственно, этого времени может быть недостаточно для восстановления показателей крови и проведения мобилизации ГСК [91].

Использование плериксафора у детей более широко стало возможным только с 2023 года, в связи с регистрацией расширения возрастного ценза применения препарата, ранее составляющего 18 лет и старше. В связи с этим результаты его применения off-label публиковались редко и на небольших группах. Первое в мире исследование, посвященное применению плериксафора у детей было опубликовано в 2020 г. [117], хотя еще в 2011 г. было опубликовано исследование показывающее безопасность и эффективность его применения у детей [155]. В исследовании MOZAIC был проведен анализ мобилизации ГСК у 45 пациентов, 30 из которых получили плериксафор в качестве дополнения к стандартному режиму мобилизации. В исследовании была показана целесообразность назначения плериксафора в дозе 240 мкг/кг, равной дозе у взрослых. В результате исследования показана высокая эффективность применения препарата у детей с наличием неудачной попытки мобилизации ГСК в анамнезе, у 27 больных была достигнута минимальная целевая клеточность трансплантата 2×10^6 кл/кг [117].

Особое место в оценке эффективности мобилизации ГСК занимает факт готовности организма ребенка к ее проведению в межблоковый период, что остается важной проблемой в соблюдении тайминга терапии ЗНО, а соответственно и ее эффективности [109, 113]. Выраженная гематологическая токсичность ряда курсов ПХТ вынуждает отказываться от этапа мобилизации ГСК в пользу восстановления показателей крови и продолжения программы лечения [93, 120].

Несмотря на значимое количество исследований эффективности мобилизаций ГСК у детей, опубликованных в РФ и за рубежом, до сих пор отсутствует единое мнение об оптимальном режиме стимуляции гемопоэза перед проведением процедуры афереза, методике проведения афереза соответственно

поставленным задачам и общепринятой прогностической шкалы оценки эффективности планируемой мобилизации. Также отсутствуют данные о сравнительном анализе мобилизаций и афереза ГСК из периферической крови у детей разных возрастных периодов и веса при различных ЗНО.

Таким образом, проведенное нами исследование позволило ответить на существующие в медицинском сообществе вопросы и персонализировать подход к проведению мобилизации CD34+ клеток и их аферезу из периферической крови у детей со ЗНО.

Проанализированные в ходе исследования данные, в объеме 257 мобилизаций и аферезов у 230 детей с различными ЗНО, позволили нам статистически подтвердить влияние ряда факторов на успешность мобилизации ГСК и их последующую сепарацию из периферической крови. Мобилизация и аферез ГСК были безопасны для всех 230 пациентов. Побочные эффекты, связанные с применением Г-КСФ наблюдались во всех возрастных группах, самыми частыми из них были боль в костях, суставах и мышцах у 36 пациентов 15,6% ($p=0,040$).

В результате исследования были определены факторами негативно влияющие на успешность мобилизации:

1. Наличие более 3 курсов ПХТ ($p=0,002$).
2. Наличие ЛТ в анамнезе ($p=0,0004$).
3. Число полученных миелотоксичных препаратов как в рамках одного курса, так и отдельно ($p=0,030$).
4. Применение плериксафора ($p=0,039$).
5. Ответ на мобилизацию в поздние сроки ($p=0,038$).
6. Вес пациентов более 15 кг ($p=0,028$).

К факторам, положительно влияющим на успешность мобилизации стали были отнесены:

1. Более младший возраст пациентов до 3х лет ($p=0,004$).
2. Стадия заболевания ($p=0,014$).
3. Факт восстановления гемопоэза после ПХТ ($p=0,030$).
4. Стандартные дозы Г-КСФ, без эскалации.

В результате проведения многофакторного регрессионного анализа, выполненного методом пошагового исключения, значимыми независимыми прогностическими факторами для оценки эффективности мобилизации стали: увеличение возраста до 18 лет, проведение в анамнезе трех и более курсов ПХТ и ЛТ. При таких данных вероятность удачной мобилизации снижается на 23,5% ($p=0,00001$).

Для каждого из трех независимых факторов риска были получены коэффициенты, которые были использованы для вычисления вероятности удачной мобилизации:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}, \quad \text{где}$$

p – вероятность удачной мобилизации;

e – основание натуральных логарифмов, равное 2,71...;

$z = 2,705 - 0,007 \times \text{возраст (лет)} - 0,946 \times \text{предлеченность} - 0,669 \times \text{ЛТ}$.

P принимает значение от 0 до 1. При $p \leq 0,5$ пациент относится к группе с низкой вероятностью удачной мобилизации, при $p > 0,5$ – к высокой вероятности. Частота корректно прогнозируемых с помощью этой модели случаев – 77% ($n=179$).

Значимыми неблагоприятными для успешного афереза факторами стали: более старший возраст (старше 8 лет), большой вес (более 15 кг), начальные стадии заболевания, наличие предлеченности, проведение ЛТ, наличие инфекционного процесса в период мобилизации и афереза, низкий уровень тромбоцитов и лейкоцитов в периферической крови в день афереза, низкий уровень СКК на старте афереза, низкий ОЦК, гиперкоагуляция, необходимость использования плериксафора, эскалация дозы Г-КСФ при мобилизации, число миелотоксичных препаратов, поздний ответ на мобилизацию, неуспешная мобилизация.

Для проведения успешного афереза необходимо учитывать влияние ряда технических параметров сепарации ГСК из периферической крови. Среди них: локализация ЦВК, большое итоговое время процедуры, большой итоговый объем клеточного продукта, увеличение обработанного ОЦК, повышенная скорость потока АСД-А в систему (на начале процедуры афереза), высокая скорость забора цельной крови, высокая скорость потока плазмы.

В результате проведения многофакторного регрессионного анализа, значимыми независимыми прогностическими факторами для успешного афереза стали следующие факторы: инфекционный процесс в период мобилизации и афереза, стадия заболевания, уровень тромбоцитов крови на старте афереза и успешность самой мобилизации.

Для каждого из четырех независимых факторов риска были получены коэффициенты, которые использованы для вычисления вероятности удачного афереза:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}, \text{ где}$$

p – вероятность удачного афереза;

e – основание натуральных логарифмов, равное 2,71...;

$z = -3,101 - 1,785 \times \text{инфекция} + 0,627 \times \text{стадия} + 0,005 \times \text{тромбоциты на старте афереза} + 3,455 \times \text{успешность мобилизации}$.

P принимает значение от 0 до 1. При $p \leq 0,5$ – пациент относится к группе с низкой вероятностью удачного афереза, при $p > 0,5$ – к высокой вероятности. Частота корректно прогнозируемых с помощью данной модели случаев – 87,2% ($n=224$).

Принимая во внимание все выше изложенные факторы, оказывающие значимое влияние на эффективность мобилизации и афереза ГСК методом аппаратного цитафереза с использованием клеточного сепаратора, лечащие врачи смогут выбрать один из предложенных алгоритмов для их проведения.

Созданные математические модели, позволят врачам оценить целесообразность проведения мобилизации ГСК и их афереза, или имея возможность прогнозировать их результативность, выбрать момент для подготовки пациента к максимально успешной мобилизации и последующему аферезу CD34+ клеток из периферической крови. Это является необходимым условием для корректного и результативного плана терапии ЗНО с учетом обеспечения персонифицированного подхода к каждому ребенку.

ВЫВОДЫ

1. Значимыми факторами, негативно влияющими на эффективность мобилизации, являются: более 3 курсов предшествующей полихимиотерапии (ПХТ) и лучевая терапия ($p < 0,05$); число полученных миелотоксичных препаратов ($p = 0,030$); применение преликсафора ($p = 0,039$); ответ на мобилизацию в поздние сроки ($p = 0,038$); вес пациента более 15 кг ($p = 0,028$). Значимыми факторами положительно влияющими на успешность мобилизации являются: младший возраст до 3х лет ($p = 0,004$); стадия заболевания ($p = 0,014$); факт восстановления гемопоза после ПХТ ($p = 0,030$); стандартные дозы Г-КСФ, без эскалации.
2. Мобилизация и аферез ГСК были безопасны для всех пациентов. Самыми частыми побочными эффектами были: боль в костях, суставах и мышцах 15,6% ($p = 0,040$).
3. Наиболее эффективный режим мобилизации ГСК для пациентов всех возрастных групп был «Г-КСФ совместно с циклофосфамидом» ($p = 0,006$). Серьезных инфекционных осложнений этот режим не вызвал ни у одного пациента.
4. Худшие результаты мобилизации ГСК получены при проведении трех и более курсов ПХТ и лучевой терапии в анамнезе ($p = 0,002$ и $p = 0,0004$ соответственно).
5. Разработанные математические модели расчета вероятности успешности мобилизации и афереза, помогают в подборе оптимального алгоритма индивидуализированного протокола мобилизации. Методика успешной мобилизации основана на формуле и включает: возраст пациента, наличие более трех курсов ПХТ и лучевой терапии. Методика успешных аферезов основана на формуле, включающей: наличие инфекционного процесса в анамнезе, стадию злокачественного новообразования, уровень тромбоцитов на начале афереза, успешность предшествующей мобилизации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Мобилизацию ГСК пациентам с Саркомой Юинга необходимо проводить на ранних сроках от окончания введения химиотерапевтического блока, учитывая 14 дневные интервалы между блоками ХТ.

2. Начало мобилизации ГСК необходимо проводить не только на восстановленном гемопоэзе после планового ХТ блока (лейкоциты менее 1×10^6 /мл). Стартовая доза Г-КСФ должна составлять от 10-15 мкг/кг, с контролем CD34+ клеток с +3 дня от мобилизации. Мобилизация данной категории больных составляет от 5-7 дней.

3. Для усиления темпов мобилизации, предпочтительней проводить эскалацию дозы Г-КСФ до 20 мкг/кг без применения плериксафора. Введение плериксафора на поздних сроках мобилизации ухудшает успешность мобилизации, а длительная мобилизация на одинаковой дозе Г-КСФ негативно влияет на мобилизацию.

4. При низком уровне CD34+ клеток в день афереза, необходимо проводить сепарацию клеток максимально близко к уровню эритроцитов. Инициально в сепараторе Spectra Optia аферез начинается на уровне слоя мононуклеаров имеющее цифровое значение «50». Необходимо вручную снизить уровень границы раздела до эритроцитов в цифровым обозначением «20». После стабилизации сбора, увеличить данный показатель до «30»

5. При развитии гиперкоагуляции в период афереза, и увеличении соотношения между антикоагулянтом и цельной кровью необходимо сохранять инициальную скорость забора цельной крови в сепаратор. Данная методика обеспечивает безопасность пациента и сбор необходимого уровня ГСК за более короткий срок.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Ауто-ТГСК	– аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
ВДХТ	– высокодозная химиотерапия
Г-КСФ	– гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
ГСК	– гемопоэтические стволовые клетки
ДМ	– достаточная мобилизация
ЗНО	– злокачественные новообразования
КМ	– костный мозг
КЩС	– кислотно-щелочной состав
ЛТ	– лучевая терапия
МСК	– мезенхимальные стволовые клетки
НМ	– недостаточная мобилизация
ОЦК	– объем циркулирующей крови
ПХТ	– полихимиотерапия
СКПК	– стволовые клетки периферической крови
СС	– сет-система
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ХТ	– химиотерапия
ЦНС	– центральная нервная система
ЭКГ	– электрокардиография
ACD-A	– anticoagulant Citrate Dextrose Solution – антикоагулянт цитрат декстроза (состав А)
CD	– cluster of differentiations – кластер дифференцировки
CXCL12	– chemokine ligand – хемокиновый лиганд
CXCR4	– chemokine receptor 4 – хемокиновый рецептор 4
SCF	– stem cell factor – фактор стволовых клеток
SDF-1	– stromal cell derived factor – фактор стромального происхождения
TNF	– tumor necrosis factor – фактор некроза опухоли
VCAM-1	– vascular cell adhesion molecule – молекула адгезии сосудистых клеток

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аферез ГСК крови у детей с экстремально низкой массой тела, как это делаем мы: опыт НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева / Е.Е. Курникова, И.Г. Хамин, В.В. Щукин [и др.] // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2020. – Т. 19. – № 2. – С. 159-159.
2. Владимирская, Е.Б. Нормальное кроветворение и его регуляция / Е.Б. Владимирская // Клиническая онкогематология. – 2015. – Т. 8. – № 2. – С. 109-119.
3. Грицаев, С.В. Отдельные аспекты аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе / С.В. Грицаев, А.А. Кузьева, С.С. Бессмельцев // Клиническая онкогематология. – 2017. – Т. 10. – № 1. – С. 7-12.
4. Клинические и лабораторные особенности сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей раннего возраста с солидными злокачественными новообразованиями весом 15 кг и менее / Н.Г. Степанян, Н.В. Матинян, А.С. Слинин [и др.] // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2022. – Т. 9. – № 1. – С. 21-28.
5. Мобилизация препаратом филграстима – граногеном аутологичных гемопоэтических стволовых клеток крови у больных с онкогематологическими заболеваниями / Л.П. Менделеева, О.С. Покровская, Е.С. Урнова [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2009. – Т. 54. – № 3. – С. 31-36.
6. Оптимизация методов сбора периферических гемопоэтических стволовых клеток у детей с онкологическими заболеваниями: обзор литературы / Н.Г. Степанян, Н.В. Сидорова, М.В. Рубанская [и др.] // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2020. – Т. 7, № 2. – С. 78-85.
7. Оценка безопасности и эффективности методики мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей разных возрастных групп со злокачественными новообразованиями: опыт одного центра / Н.Г. Степанян, К.И. Киргизов, Е.Б. Мачнева [и др.] // Педиатрия. – 2024. – Т. 103, № 3. – С. 21-30.

8. Покровская, О.С. Механизм действия и клиническая эффективность антагониста хемокинового рецептора CXCR4 плериксафора при мобилизации гемопоэтических стволовых клеток / О.С. Покровская // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2012. – Т. 5. – № 4. – С. 371-379.

9. Пример успешной мобилизации стволовых кроветворных клеток периферической крови с помощью плериксафора и пэгфилграстима у пациентки с неходжкинской лимфомой / М.С. Моталкина, С.А. Кулева, С.М. Алексеев [и др.] // Современная онкология. – 2015. – Т. 17. – № 2. – С. 54-56.

10. Результаты и методика сбора стволовых клеток периферической крови у детей и подростков / И.С. Долгополов, Р.И. Пименов, В.К. Бояршинов [и др.] // Онкопедиатрия. – 2014. – № 1. – С. 40-45.

11. Результаты мобилизации, афереза и аутореинфузии гемопоэтических стволовых клеток у детей с нейробластомой: роль мониторинга количества CD34+ клеток в периферической крови / Е.Е. Курникова, И.Б. Кумукова, И.В. Гуз [и др.] // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2017. – Т. 16. – № 1. – С. 28-39.

12. Состояние структур гемопоэтической ниши при малигнизированном В-лимфопозе / Н.Ю. Семенова, С.С. Бессмельцев, С.В. Грицаев [и др.] // Вестник гематологии. – 2018. – Т. XIV. – № 1. – С. 4-11.

13. Федоренко, Д.А. Принципы оценки эффективности аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у больных лимфомами и рассеянным склерозом : специальность 14.01.21 «Гематология и переливание крови» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Федоренко Денис Анатольевич; «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова». – Москва, 2015. – 188 с. – Текст : непосредственный.

14. Ярилин, А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии / А.А. Ярилин // Иммунология. – 1997. – Т. 5. – С. 7-14.

15. A Novel Hematopoietic Progenitor Cell Mobilization Regimen, Utilizing Bortezomib and Filgrastim, for Patients Undergoing Autologous Transplant /

S. Abhyankar, P. Lubanski, S. DeJarnette [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis*. – 2016. – Vol. 31. – № 6. – P. 559-563.

16. A phase III prospective randomized double-blind placebo controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma / J.F. Di Persio, I. Micallef, J. Stiff [et al.] // *J. Clin. Onco.* – 2009. – Vol. 27. – № 28. – P. 4767-4773.

17. Advances in mobilization for the optimization of autologous stem cell transplantation / J.M. Vose, A.D. Ho, B. Coiffier [et al.] // *Leuk Lymphoma*. – 2009. – Vol. 50. – P. 1412-1421.

18. Ahmetovic-Karic, C. Characteristics of autologous peripheral blood stem cells collection over a one-year period / C. Ahmetovic-Karic, E. Catovic-Baralija, A. Sofic-Hafizovic // *Med. Glas (Zenica)*. – 2020. – Vol. 17. – № 2. – P. 290-296.

19. AMD3100 and CD26 modulate mobilization, engraftment, and survival of hematopoietic stem and progenitor cells mediated by the SDF-1/CXCL12-CXCR4axis / H. Broxmeyer, G. Hangoc, S. Cooper [et al.] // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 1106. – P. 1-19.

20. 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 / G. Calandra, J. McCarty, J. McGuirk [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2008. – Vol. 41. – № 4. – P. 331-338.

21. Analysis of Radiation-Induced Changes in Cell Cycle and DNA Damage of Murine Hematopoietic Stem Cells by Multi-Color Flow Cytometry / M. Debajyoti, E. Pietras, S. Pawar [et al.] // *Curr. Protoc.* – 2021. – Vol. 1. – № 8. – P. e216.

22. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in patients with relapsed lymphoma results in accelerated hematopoietic reconstitution, improved quality of life and cost reduction compared with bone marrow transplantation: the HOVON 22 study / E. Vellenga, M. van Agthoven, A.J. Croockewit [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2001. – Vol. 114. – № 2. – P. 319-326.

23. 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 / P. Dreger, M. Kloss, B. Petersen [et al.] // *Blood*. – 1995. – Vol. 86. – № 10. – P. 39700-39708.

24. Barrett, D. Autologous and allogeneic cellular therapies for high-risk pediatric solid tumors / D. Barrett, J.D. Fish, S.A. Grupp // *Pediatr Clin. North Am.* – 2010. – Vol. 57. – № 1. – P. 47-66.

25. Bendall, L.J. G-CSF: From granulopoietic stimulant to bone marrow stem cell mobilizing agent / L.J. Bendall, K.F. Bradstock // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. – 2014. – Vol. 25. – № 4. – P. 355-367.

26. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation / R.E. Champlin, N. Schmitz, M.M. Horowitz [et al.] // *Blood*. – 2000. – Vol. 95. – № 12. – P. 3702-3709.

27. Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs / I.G. Winkler, N.A. Sims, A.R. Pettit [et al.] // *Blood*. – 2010. – Vol. 116. – № 23. – P. 4815-4828.

28. Bonig, H. Mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells: general principles and molecular mechanisms / H. Bonig, T. Papayannopoulou // *Methods Mol. Biol.* – 2012. – Vol. 904. – P. 1-14.

29. Brief cycling intervals incrementally increase the number of hematopoietic stem and progenitor cells in human peripheral blood / F. Pranada, T. Nijjar, P.A. Cox [et al.] // *Front Physiol.* – 2024. – Vol. 15 – P. 1327269.

30. Calado, R.T. Telomere maintenance and human bone marrow failure / R.T. Calado, N.S. Young // *Blood*. – 2008. – Vol. 111. – № 9. – P. 4446-4455.

31. CD34+ Collection efficiency as a function of blood volumes processed in Pediatric autologous peripheral blood stem cell collection / L. Dubrovsky, E.C. Wong, E. Perez-Albuerne [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis*. – 2011. – Vol. 26. – № 3. – P. 131-137.

32. Change in stem cell source for hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in Europe: a report of the EBMT activity survey 2003 / A. Gratwohl,

H. Baldomero, O. Schmid [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2003. – Vol. 36. – № 7. – P. 575-590.

33. Changes of cytokine levels during granulocyte – colony-stimulating factor stem cell mobilization in healthy donors: association with mobilization efficiency and potential predictive significance / D. Lysak, M. Hrabetova, J. Vrzalova [et al.] // *Transfusion*. – 2011. – Vol. 51. – № 2. – P. 319-327.

34. Characterization and outcome of ‘hard to mobilize’ lymphoma patients undergoing autologous stem cell transplantation / M.W. Sugrue, K. Williams, B.H. Pollock [et al.] // *Leuk Lymphoma*. – 2000. – Vol. 39. – № 5-6. – P. 509-519.

35. Circadian expression of clock genes in purified hematopoietic stem cells is developmentally regulated in mouse bone marrow / O. Tsinkalovsky, E. Filipski, B. Rosenlund [et al.] // *Exp Hematol*. – 2006. – Vol. 34. – № 9. – P. 1249-1261.

36. Circadian rhythms, adrenergic hormones and trafficking of hematopoietic stem cells / A. Giudice, M. Caraglia, M. Marra [et al.] // *Expert Opin Ther. Targets*. – 2010. – Vol. 14. – № 5. – P. 567-575.

37. Civriz Bozdog, S. The current status in hematopoietic stem cell mobilization / S. Civriz Bozdog, E. Tekgunduz, F.J. Altuntas // *Clin. Apher.* – 2015. – Vol. 30. – № 5. – P. 273-280.

38. Clinical Application of Apheresis in Very Small Dogs Weighing <8 kg to Pediatric Patients / T. Sekiguchi, A. Vigani, A.Z. Ripoll [et al.] // *Ther. Apher. Dial.* – 2020. – Vol. 24. – № 3. – P. 333-342.

39. Collection and transplantation of peripheral blood progenitor cells mobilized by G-CSF alone in children with malignancies / M.A. Diaz, M. Villa, A. Alegre [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 1996. – Vol. 94. – № 1. – P. 148-154.

40. Collection and transplantation of peripheral blood stem cells in very small children weighing 20 kg or less / Y. Takaue, Y. Kawano, T. Abe [et al.] // *Blood*. – 1995. – Vol. 86. – № 1. – P. 372-380.

41. Collection of hematopoietic CD34 stem cells in rhesus macaques using Spectra / L.D. Haynes, J. Coonen, J. Post [et al.] // *Optia. J. Clin. Apher.* – 2017. – Vol. 32. – № 5. – P. 288-294.

42. Collection of hematopoietic stem cells after previous radioimmunotherapy is feasible and does not impair engraftment after autologous stem cell transplantation in follicular lymphoma / E. Derenzini, V. Stefoni, R. Maglie [et al.] // *Biology of blood and marrow transplantation*. – 2013. – Vol. 19. – № 12. – P. 1695-1701.

43. Comparable engraftment kinetics following peripheral-blood stem-cell infusion mobilized with granulocyte colony-stimulating factor with or without cyclophosphamide in multiple myeloma / K.R. Desikan, B. Barlogie, S. Jagannath [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1998. – Vol. 16. – № 4. – P. 1547-1553.

44. Comparison of spectra optia and amicus cell separators for autologous peripheral blood stem cell collection / Y. Chung, J.H. Kong, Y. Hu [et al.] // *J. Clin. Apher.* – 2021. – Vol. 36. – № 1. – P. 28-33.

45. Comparison of three mobilization protocols for peripheral blood stem cell apheresis with Spectra Optia continuous mononuclear cell protocol in healthy dogs / S. Kim, K. Hosoya, A. Kobayashi, M. Okumura // *Vet. Comp. Oncol.* – 2019. – Vol. 17. – № 1. – P. 61-68.

46. Comparison of two apheresis systems for autologous stem cell collections in pediatric oncology patients / E. Even-Or, A. Eden-Walker, M.D. Mola, E. McDougall // *Transfusion*. – 2017. – Vol. 57. – № 1. – P. 122-130.

47. Cost and clinical analysis of autologous hematopoietic stem cell mobilization with G-CSF and plerixafor compared to G-CSF and cyclophosphamide / P. Shaughnessy, M. Islas-Ohlmayer, J. Murphy [et al.] // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2011. – Vol. 17. – № 5. – P. 729-736.

48. CXCR4-mediated bone marrow progenitor cell maintenance and mobilization are modulated by c-kit activity / M. Cheng, J. Zhou, M. Wu [et al.] // *Circ. Res.* – 2010. – Vol. 107. – № 9. – P. 1083-1093.

49. Cyclophosphamide mobilization does not improve outcome in patients receiving stem cell transplantation for multiple myeloma / D. Dingli, G.S. Nowakowski, A. Dispenzieri [et al.] // *Clin. Lymphoma Myeloma*. – 2006. – Vol. 5. – P. 384-388.

50. Dainiak, N. The evolving role of haematopoietic cell transplantation in radiation injury: potentials and limitations / N. Dainiak, R. Ricks // *The British Journal of Radiology*. – 2005. – Vol. 78. – Supplement_27. – P. 169-174.

51. De Clercq, E. Mozobil® (Plerixafor, AMD3100), 10 years after its approval by the US Food and Drug Administration / E. De Clercq // *Antivir Chem. Chemother.* – 2019. – Vol. 27. – P. 2040206619829382.

52. Defining “poor mobilizer” in pediatric patients who need an autologous peripheral blood progenitor cell transplantation / J. Sevilla, M. Guillen, A. Castillo [et al.] // *Cytotherapy.* – 2013. – Vol. 15. – № 1. – P. 132-137.

53. Del Fante, C. Reflections on methodical approaches to hematopoietic stem cell collection in children / C. Del Fante, J. Seghatchian, C. Perotti // *Transfus Apher Sci.* – 2018. – Vol. 57. – № 3. – P. 425-427.

54. Demirer, T. Optimisation of peripheral blood stem cell mobilization / T. Demirer, C.D. Buckner, W.L. Benshiger // *Stem Cells.* – 1996. – Vol. 14. – № 1. – P. 106-16.

55. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real-time imaging / Y. Xie, T. Yin, W. Wiegraebe [et al.] // *Nature.* – 2009. – Vol. 457. – № 7225. – P. 97-101.

56. Development and current use of in hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents in Poland: Report of the Polish pediatric study group for hematopoietic stem cell transplantation of the Polish society for pediatric oncology and Hematology / J. Wachowiak, A. Chybicka, J.R. Kowalczyk [et al.] // *Transfus. Apher. Sci.* – 2018. – Vol. 57. – № 3. – P. 316-322.

57. Development of apheresis techniques and equipment designed for patients weighing less than 10 kg / L.B. Pratz, I. Gru, M. Spotti [et al.] // *Transfus Apher Sci.* – 2018. – Vol. 57. – № 3. – P. 331-336.

58. Development of model for analysing respective collections of intended hematopoietic stem cells and harvests of unintended mature cells in apheresis for autologous hematopoietic stem cell collection / O. Hequet, Q. Le, J. Rodriguez [et al.] // *Transfus Apher Sci.* – 2014. – Vol. 50. – № 2. – P. 294-302.

59. Dolgoplov, I. Delayed introduction of G-CSF after chemotherapy does not affect peripheral blood stem cell yield and engraftment kinetics in children with high-risk malignancies: retrospective study of 45 cases / I. Dolgoplov // *American Journal of Hematology.* – 2003. – Vol. 73. – № 4. – P. 225-229.

60. Eaton, E.B. Jr. Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome: innovative medical approaches in military medicine / E.B. Eaton, T.R. Varney // *Military Medical Research*. – 2015. – Vol. 2. – № 1. – P. 2.

61. Effect of human granulocyte colony stimulating factor on Neuroblastoma cell growth / M. Morel, F. Beaujeanl, C.Le. Forestier [et al.] // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. – 1993. – Vol. 47. – № 1. – P. 29-32.

62. Effective collection of peripheral blood stem cells in children weighing 20 kilogram or less in a single large-volume apheresis procedure / R. Salazar-Riojas, J.A. Garcia-Lozano, M. Valdes-Galvan [et al.] // *J. Clin. Apher.* – 2015. – Vol. 30. – № 5. – P. 281-287.

63. Efficacy of plerixafor in children with malignant tumors failing to mobilize a sufficient number of hematopoietic progenitors with G-CSF / A.A. Maschan, D.N. Balashov, E.E. Kurnikova [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2015. – Vol. 50. – № 8. – P. 1089-1091.

64. Efficacy of the mobilization of peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor in pediatric donors / Y. Kawano, Y. Takaue, T. Watanabe [et al.] // *Cancer Res*. – 1999. – Vol. 59. – № 1. – P. 3321-3324.

65. Empringham, B. Collection of hematopoietic stem cells and immune effector cells in small children / B. Empringham, K.Y. Chiang, J. Krueger // *Transfus Apher Sci*. – 2018. – Vol. 57. – № 5. – P. 614-618.

66. Engraftment syndrome in children undergoing autologous peripheral blood progenitor cell transplantation / L. Madero, M.G. Vicent, J. Sevilla [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2002. – Vol. 30. – № 6. – P. 355-358.

67. European data on stem cell mobilization with plerixafor in non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma patients: a subgroup analysis of the European Consortium of Stem Cell Mobilization / K. Hubel, M.M. Fresen, J.F. Apperley [et al.] // *Bone marrow transplantation*. – 2011. – Vol. 47. – № 8. – P. 1046-1050.

68. Evaluating the efficiency and safety of large-volume leukapheresis using the Spectra Optia continuous mononuclear cell collection protocol for peripheral blood stem

cell collection from healthy donors: A retrospective study / Y. Sumii, K. Fujii, T. Kondo [et al.] // *Transfusion*. – 2023. – Vol. 63. – № 11. – P. 2120-2130.

69. Factors affecting hematopoietic progenitor cell mobilization: an analysis of 307 patients / A.Jr. Mendrone, C.A. Arrais, R. Saboya [et al.] // *Transfusion Apheresis Science*. – 2008. – Vol. 39. – № 3. – P. 187-192.

70. Factors affecting stem cell mobilization for autologous hematopoietic stem cell transplantation / Z.N. Ozkurt, Z.A. Yegin, E. Suyani [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis*. – 2010. – Vol. 25. – № 2. – P. 280-286.

71. First salvage treatment with bendamustine and brentuximab vedotin in Hodgkin lymphoma: a phase 2 study of the Fondazione Italiana Linfomi / A. Broccoli, L. Argnani, B. Botto [et al.] // *Blood Cancer Journal*. – 2019. – Vol. 9. – № 12. – P. 100.

72. Fludarabine containing-regimens may adversely affect peripheral blood stem cell collection in low-grade non Hodgkin lymphoma patients / D. Laszlo, P.Galieni, D. Raspadori [et al.] // *Leukemia & Lymphoma*. – 2000. – Vol. 37. – № 1-2. – P. 157-161.

73. Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillators / S. Mendez-Ferrer, D. Lucas, M. Battista, P.S. Frenette // *Nature*. – 2008. – Vol. 452. – № 7186. – P. 442-447.

74. Hematopoietic progenitor cell mobilization and harvesting in children with malignancies: do the advantages of pegfilgrastim really translate into clinical benefit? / E. Merlin, S. Zohar, S. Jérôme [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2009. – Vol. 43. – № 12. – P. 919-925.

75. Hematopoietic rescue after high-dose chemotherapy using autologous peripheral-blood progenitor cells or bone marrow: a randomized comparison / J. Beyer, N. Schwella, J. Zingsem [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1995. – Vol. 13, № 6. – P. 1328-1335.

76. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually / J.R. Passweg, H. Baldomero, P. Bader [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2016. – Vol. 51. – № 6. – P. 786-792.

77. High-dose chemotherapy followed by autologous hematopoietic cell transplantation for children, adolescents, and young adults with first recurrence of Ewing sarcoma / L.M. Haveman, R.V. Ewijk, E.C. Van Dalen [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2021. – Vol. 2. - № 9. – P. CD011406. – doi: 10.1002/14651858(4).

78. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size / J. Zhang, C. Niu, L. Ye [et al.] // *Nature.* – 2003. – Vol. 425. – № 6960. – P. 836-841.

79. Ifosphamide, etoposide and epirubicin is an effective combined salvage and peripheral blood stem cell mobilisation regimen for transplant-eligible patients with non-Hodgkin lymphoma and Hodgkin disease / M.J. Bishton, R.J. Lush, J.L. Byrne [et al.] // *British journal of haematology.* – 2007. – Vol. 136. – № 5. – P. 752-761.

80. Isolation and transplantation of highly purified autologous peripheral CD34+ progenitor cells: purging efficacy, hematopoietic reconstitution and long-term outcome in children with high-risk neuroblastoma / R. Handgretinger, P. Lang, K. Ihm [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2002. – Vol. 29. – № 9. – P. 731-736.

81. Karakukcu, M. Stem cell mobilization and collection from pediatric patients and healthy children / M. Karakukcu, E. Unal // *Transfus. Apher. Sci.* – 2015. – Vol. 53. – № 1. – P. 17-22.

82. Keating, G.M. Plerixafor: a review of its use in stem-cell mobilization in patients with lymphoma or multiple myeloma / G.M. Keating // *Drugs.* – 2011. – Vol. 71. – № 12. – P. 1623-1647.

83. Kessinger, A. The whys hows of hematopoietic progenitor and stem cell mobilization / A. Kessinger, J.G. Sharp // *Bone marrow Transplantation.* – 2003. – Vol. 31. – № 5. – P. 319-329.

84. Kim, H.C. Therapeutic pediatric apheresis / H.C. Kim // *Journal of Clinical Apheresis.* – 2000. – Vol. 15. – № 1-2. – P. 129-157.

85. Korbling, M. Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: Does the source of hematopoietic stem cells matter? / M. Korbling, P. Anderlini // *Blood.* – 2001. – Vol. 98. – № 10. – P. 2900-2908.

86. Lemoli, R.M. New Strategies for Stem Cell Mobilization / R.M. Lemoli // *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. – 2012. – Vol. 4. – № 1. – P. e2012066.
87. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches / T. Sugiyama, H. Kohara, M. Noda, T. Nagasawa // *Immunity*. – 2006. – Vol. 25. – № 6. – P. 977-988.
88. Marwah, A. A Review of Advances in Hematopoietic Stem Cell Mobilization and the Potential Role of Notch2 Blockade / A. Marwah, T. Hammad, Z. Lan // *Cell. Transplantation*. – 2020. – Vol. 29. – P. 1-13.
89. Minimal residual disease at the time of peripheral blood stem cell harvest in patients with advanced neuroblastoma / S.A. Burchill, S.E. Kinsey, S. Picton [et al.] // *Med. Pediatr. Oncol.* – 2001. – Vol. 36. – № 1. – P. 213-219.
90. Mobilization of peripheral blood stem cells with plerixafor in poor mobilizer patients / J.M. Sancho, R. Duarte, L. Medina, S. Querol // *Med. Clin. (Barc)*. – 2016. – Vol. 147. – № 5. – P. 223.
91. Mora, J. Autologous Stem-Cell Transplantation for High-Risk Neuroblastoma: Historical and Critical Review / J. Mora // *Cancers (Basel)*. – 2022. – Vol. 14. – № 11. – P. 2572.
92. Nervi, B. Cytokines and hematopoietic stem cell mobilization / B. Nervi, D.S. Link, J.F. DiPersio // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2006. – Vol. 99. – № 3. – P. 690-705.
93. New insight into the mechanism of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) that induces the mobilization of neutrophils / A. Theyab, M. Algahtani, K. Alsharif [et al.] // *Hematology*. – 2021. – Vol. 26. – № 1. – P. 628-636.
94. Notch2 blockade enhances hematopoietic stem cell mobilization and homing / W. Weihuan, Y. Shuiliang, M. Jay [et al.] // *Haematologica*. – 2017. – Vol. 102. – № 10. – P. 1785-1795.
95. Notch2 governs the rate of generation of mouse long- and short-term repopulating stem cells / B. Varnum-Finney, L.M. Halasz, M. Sun [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2011. – Vol. 121. – № 3. – P. 1207-1216.

96. Novel Evidence that Purinergic Signaling – Nlrp3 Inflammasome Axis Regulates Circadian Rhythm of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Circulation in Peripheral Blood / M. Adamiak, A. Ciechanowicz, M. Skoda [et al.] // *Stem Cell Rev. Rep.* – 2020. – Vol. 16. – № 2. – P. 335-343.

97. Once-daily intravenous busulfan for 47 pediatric patients undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation: a single center study / N. Gonzalez-Vicent, B. Molina, A. Pérez, M.A. Díaz // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* – 2012. – Vol. 34. – № 3. – P. 180-183.

98. Optimal timing for collection of PBPC after glycosylated G-CSF administration / M.J. Watts, I. Addison, S.J. Ings [et al.] // *Bone marrow transplantation.* – 1998. – Vol. 21. – № 4. – P. 365-368.

99. Optimized peripheral blood progenitor cell mobilization for autologous hematopoietic cell transplantation in children with high-risk and refractory malignancies / E. Furlong, J. Jensen, M. Woodard [et al.] // *Pediatric transplantation.* – 2020. – Vol. 24. – № 1. – P. e13602.

100. Optimizing Autologous Stem Cell Mobilization Strategies to Improve Patient Outcomes: Consensus Guidelines and Recommendations / S. Giralt, L. Costa, J. Schriber [et al.] // *J. Am. Soc. Blood Marrow Transplantation.* – 2014. – Vol. 20. – № 3. – P. 295-308.

101. Orkin, S.H. Hematopoiesis: how does it happen? / S.H. Orkin, O. Curr // *Cell. Biol.* – 1995. – Vol. 7. – № 6. – P. 870-877.

102. Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma / R. Haas, R. Mohle, S. Fruhauf [et al.] // *Blood.* – 1994. – Vol. 83. – № 12. – P. 3787-3794.

103. Pediatric sibling donors of successful and unsuccessful hematopoietic stem cell transplants (HSCT); a qualitative study of their psychosocial experience / K.D. MacLeod, S.F. Whitsett, E.J. Mash, W. Pelletier // *Journal of Pediatric Psychology.* – 2003. – Vol. 28. – № 4. – P. 223-230.

104. Pegfilgrastim plus AMD 3100 for stem cell mobilization in children / C. Cardenoux, F. Demenocq, J. Kanold [et al.] // *Pediatric Blood Cancer.* – 2010. – Vol. 55. – № 4. – P. 769.

105. Pegylated granulocyte-colony stimulating factor versus non-pegylated granulocyte-colony stimulating factor for peripheral blood stem cell mobilization: A systematic review and meta-analysis / J.W. Kuan, A.T. Su, C.F. Leong [et al.] // *J. Clin. Apher.* – 2017. – Vol. 32. – № 6. – P. 517-542.

106. Peinemann, F. Autologous hematopoietic stem cell transplantation following high-dose chemotherapy for nonrhabdomyosarcoma soft tissue sarcoma s / F. Peinemann, H. Enk, L.A. Smith // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2017. – Vol. 13. – № 4. – P. 4.

107. Peripheral blood progenitor cell collection in pediatric patients optimized by high pre-apheresis count of circulating CD34+ cells and high blood flow / A. Karow, A. Wilhelm, R.A. Ammann [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2018. – Vol. 54. – № 6. – P. 885-893.

108. Peripheral blood progenitor cell mobilization for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation / H.K. Duong, B.N. Savani, E. Copelan [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2014. – Vol. 20. – № 9. – P. 1262-1273.

109. Peripheral blood progenitor cell transplantation in lymphoma and leukemia using a single apheresis / R. Pettengell, G.R. Morgenstern, P.J. Woll [et al.] // *Blood.* – 1993. – Vol. 82. – № 12. – P. 3770-3777.

110. Peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation for solid tumors and lymphomas: hematologic recovery and costs. A randomized, controlled trial / O. Hartmann, AG.Le. Corroller, D. Blaise [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 1997. – Vol. 126. – № 8. – P. 600-607.

111. Peripheral blood stem cell collection in low-weight children: retrospective comparison of two apheresis devices / B. Cherqaoui, N. Rouel, A.S. Defachelles [et al.] // *Transfusion.* – 2014. – Vol. 54. – № 5. – P. 1371-1378.

112. Peripheral blood stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor alone and engraftment kinetics following autologous transplantation in children and adolescents with solid tumor / H. Watanabe, T. Watanabe, H. Suzuya [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2006. – Vol. 37. – № 7. – P. 661-668.

113. Peripheral blood stem cells collection by apheresis in very low-weight children with malignant diseases-A single center experience / L. Vieira, S. Teixeira, C. Reis [et al.] // *J. Clin. Apher.* – 2023. – Vol. 38. – № 1. – P. 24-32.

114. Peripheral stem cell mobilization and engraftment in patients over age 60 / S.C. Guba, D.H. Vesole, S. Jagannath [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 1997. – Vol. 20. – № 1. – P. 1-3.

115. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of plerixafor in patients with non-Hodgkin lymphoma and multiple myeloma / D.A. Stewart, C. Smith, R. MacFarland [et al.] // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2009. – Vol. 15. – № 1. – P. 39-46.

116. Phase I trial of parathyroid hormone to facilitate stem cell mobilization / K.K. Ballen, E.J. Shpall, D. Avigan [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2007. – Vol. 13. – № 7. – P. 838-843.

117. 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) / B. Morland, T. Kepak, S. Dallorso [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2020. – Vol. 55. – № 9. – P. 1744-1753.

118. Plerixafor plus granulocyte colony stimulating factor for autologous hematopoietic stem cell mobilization in patients with metastatic neuroblastoma / S. Modak, I.Y. Cheung, B.H. Kushner [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2012. – Vol. 58. – № 3. – P. 469-471.

119. Plerixafor plus granulocyte CSF can mobilize hematopoietic stem cells from multiple myeloma and lymphoma patients failing previous mobilization attempts: EU compassionate use data / R.F. Duarte, B.E. Shaw, P. Marin [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2010. – Vol. 46. – № 1. – P. 52-58.

120. Plerixafor stem cell mobilization in Japanese children: A post-marketing study / H. Goto, R. Kanamori, S. Nishina, T. Seto // *Pediatr. Int.* – 2022. – Vol. 64. – № 1. – P. 15106.

121. Poor mobilization of hematopoietic stem cells definitions, incidence, risk factors, and impact on outcome of autologous transplantation / P. Wuchter, D. Ran, T. Bruckner [et al.] // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2010. – Vol. 16. – № 4. – P. 490-499.

122. Poor mobilizer: a retrospective study on proven and predicted incidence according to GITMO criteria / N. Piccirillo, M. Vacca, A. Lanti [et al.] // *Transfus Apher Sci.* – 2012. – Vol. 47. – № 2. – P. 217-221.

123. Predicting failure of hematopoietic stem cell mobilization before it starts: the predicted poor mobilizer (pPM) score / J. Olivieri, I. Attolico, R. Nuccorini [et al.] // *Bone Marrow Transplantation.* – 2018. – Vol. 53. – № 4. – P. 461-473.

124. Predicting poor peripheral blood stem cell collection in patients with multiple myeloma receiving pre-transplant induction therapy with novel agents and mobilized with cyclophosphamide plus granulocyte-colony stimulating factor: results from a Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell'Adulto Multiple Myeloma Working Party study / P. Musto, V. Simeon, A. Grossi [et al.] // *Stem Cell Research & Therapy.* – 2015. – Vol. 6. – № 1. – P. 64.

125. Prediction of success of CD34+ collection for autotransplantation in children / A. Corbel, E. Cousin, A.L. Tallec [et al.] // *Bulletin du Cancer.* – 2023. – Vol. 110. – № 6. – P. 623-634.

126. Predictive factors for inadequate stem cell mobilization in Chinese patients with NHL and HL: 14-year experience of a single-center study / X. Han, L. Ma, L. Zhao [et al.] // *J. Clin. Apher.* – 2012. – Vol. 27. – № 2. – P. 64-74.

127. Predictive factors for successful peripheral blood stem cell mobilization and collection in children / T.H. Truong, N.L. Prokopishyn, H. Luu [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis.* – 2019. – Vol. 34. – № 5. – P. 598-606.

128. Predictors of unsuccessful mobilization with granulocyte colony-stimulating factor alone in patients undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation / S. Chow, A. Lazo-Langner, G. Ormond [et al.] // *Journal of clinical apheresis.* – 2013. – Vol. 28. – № 4. – P. 285-292.

129. Preemptive dosing of plerixafor given to poor stem cell mobilizers on day 5 of G-CSF administration / M.E. Horwitz, J.P. Chute, C. Gasparetto [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2012. – Vol. 47. - № 8. – P. 1051-1055.

130. Proliferation of human hematopoietic bone marrow cells in simulated microgravity / P.A. Plett, S.M. Frankovitz, R. Abonour, C.M. Orschell-Traycoff // *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Animal.* – 2004. – Vol. 37. – № 2. – P. 73-78.

131. Prospective noninterventional study on peripheral blood stem cell mobilization in patients with relapsed lymphomas / G. Gorkom, H. Finel, S. Giebel [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis*. – 2017. – Vol. 32. – № 5. – P. 295-301.

132. Pulsipher, M.A. Safety and efficacy of allogeneic PBSC collection in normal pediatric donors: the Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium Experience (PBMTC) 1996–2003 / M.A. Pulsipher, J.E. Levine, R.J. Hayashi // *Bone Marrow Transplantation*. – 2005. – Vol. 35. – № 4. – P. 361-367.

133. Qian, L. Hematopoietic Stem Cells and Mesenchymal Stromal Cells in Acute Radiation Syndrome / L. Qian, J. Cen // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 8340756.

134. Quantitation, mobilization, and clinical use of long-term culture-initiating cells in blood cell autografts / H.J. Sutherland, D.E. Hogge, P.M. Landsdorp [et al.] // *Journal of Hematotherapy*. – 1995. – Vol. 4. – № 1. – P. 3-10.

135. Randomised trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients / N. Schmitz, D.C. Linch, P. Dreger [et al.] // *Lancet*. – 1996. – Vol. 347. – № 8998. – P. 353-357.

136. Rapid mobilization of hematopoietic progenitors by AMD3100 and catecholamines is mediated by CXCR4-dependent SDF-1 release from bone marrow stromal cells / A. Dar, A. Schajnovitz, K. Lapid [et al.] // *Leukemia*. – 2011. – Vol. 25. – № 8. – P. 1286-1296.

137. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist / H.E. Broxmeyer, C.M. Orschell, D.W. Clapp [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2005. – Vol. 201. – P. 1307-1318.

138. Regulatory cross talks of bone cells, hematopoietic stem cells and the nervous system maintain hematopoiesis / O. Kollet, J. Canaani, A. Kalinkovich [et al.] // *Inflamm Allergy Drug Targets*. – 2012. – Vol. 11. – № 3. – P. 170-180.

139. Regulatory systems in bone marrow for hematopoietic stem/progenitor cells mobilization and homin / P. Alvarez, E. Carrillo, C. Vélez [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 312656.

140. Risk factors for a poor hematopoietic stem cell mobilization / A. Donmez, F. Yilmaz, N. Gokmen [et al.] // *Transfusion Apheresis Science*. – 2013. – Vol. 49. – № 3. – P. 485-488.

141. Sahin, U. Current strategies for the management of autologous peripheral blood stem cell mobilization failures in patients with multiple myeloma / U. Sahin, T. Demirer // *J. Clin. Apher.* – 2018. – Vol. 33. – № 3. – P. 357-370.

142. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow / Y. Katayama, M. Battista, W.M. Kao [et al.] // *Cell*. – 2006. – Vol. 124. – № 2. – P. 407-421.

143. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells / M.J. Kiel, O.H. Yilmaz, T. Iwashita [et al.] // *Cell*. – 2005. – Vol. 121. – № 7. – P. 1109-1121.

144. Spectra Optia a leukapheresis of cynomolgus macaques for hematopoietic stem cell and T cell collection / L.W. Helen, J.M. Greene, T. Swanson [et al.] // *J. Clin. Apher.* – 2021. – Vol. 36. – № 1. – P. 67-77.

145. Stem cell collection and hematological recovery in the Fondazione Italiana Linfomi (FIL) MCL0208 clinical trial / M. Clerico, S. Ferrero, B. Alessandria [et al.] // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – P. 16946.

146. Stem cell mobilization after bendamustine in indolent lymphomas: a multicenter study on behalf of the Fondazione Italiana Linfomi / M. Merli, S. Luminari, L. Farina [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2020. – Vol. 55. – № 12. – P. 2350-2353.

147. Stem cell therapies for the treatment of radiation-induced normal tissue side effects / M. Benderitter, F. Caviggioli, A. Chapel [et al.] // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2014. – Vol. 21. – № 2. – P. 338-355.

148. Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells-a review / L. Bacakova, J. Zarubova, M. Travnickova [et al.] // *Biotechnol. Adv.* – 2018. – Vol. 36. – № 4. – P.1111-1126.

149. Successful mobilization, harvest and transplant of peripheral blood stem cells using AMD3100 and G-CSF following high dose craniospinal irradiation for

medulloblastoma in a young child / H. Toledano, A. Yahel, I.J. Cohen [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2010. – Vol. 54. – № 4. – P. 613-615.

150. Successful stem cell remobilization using plerixafor (mozobil) plus granulocyte colony-stimulating factor in patients with non-hodgkin lymphoma: results from the plerixafor NHL phase 3 study rescue protocol / I.N. Micallef, P.J. Stiff, J.F. DiPersio [et al.] // *Biol Blood Marrow Transplant*. – 2009. – Vol. 15. – № 12. – P. 1578-1586.

151. Suppression of CXCL12 production by bone marrow osteoblasts is a common and critical pathway for cytokine-induced mobilization / M.J. Christopher, F. Liu, M.J. Hilton [et al.] // *Blood*. – 2009. – Vol. 114. – № 7. – P. 1331-1339.

152. Tandem high-dose chemotherapy and autologous stem cell rescue in children with newly diagnosed high-risk medulloblastoma or supratentorial primitive neuro-ectodermic tumors / C. Dufour, V. Kieffer, P. Varlet [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2014. – Vol. 61. – № 8. – P. 1398-1402.

153. The biology and clinical uses of blood stem cells / L.B. To, D.N. Haylock, P.J. Simmons [et al.] // *Blood*. – 1997. – Vol. 89. – P. 2233-2258.

154. The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years / H. Baldomero, M. Gratwohl, A. Gratwohl [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2011. – Vol. 46. – № 4. – P. 485-501.

155. The feasibility of plerixafor as a second-line stem cell mobilizing agent in children / K. Aabideen, P. Anoop, M.E. Ethell [et al.] // *J. Pediatr. Hematol. Oncol*. – 2011. – Vol. 33. – № 1. – P. 65-67.

156. The more, the less: age and chemotherapy load are predictive of poor stem cell mobilization in patients with hematologic malignancies / S.M. Yang, H. Chen, Y.H. Chen [et al.] // *Chin. Med. J. (Engl)*. – 2012. – Vol. 125. – № 4. – P. 593-598.

157. The notch ligand jagged-1 represents a novel growth factor of human hematopoietic stem cells / F.N. Karanu, B. Murdoch, L. Gallacher [et al.] // *J. Exp. Med*. – 2000. – Vol. 192. – № 9. – P. 1365-1372.

158. Therapeutic antibody targeting of individual Notch receptors / Y. Wu, C. Cain-Hom, L. Choy [et al.] // *Nature*. – 2010. – Vol. 464. – № 7291. – P. 1052-1057.

159. Therapeutic targeting of a stem cell niche / G.B. Adams, R.P. Martin, I.R. Alley [et al.] // *Nat Biotechnol.* – 2007. – Vol. 25. – № 2. – P. 238-243.

160. To, L.B. How I treat patients who mobilize hematopoietic stem cells poorly / L.B. To, J.P. Levesque, K.E. Herbert // *Blood.* – 2011. – Vol. 118. – P. 4530-4540.

161. Use of hematopoietic colony stimulating factors: the American society of clinical oncology survey / C.L. Bennett, T.J. Smith, J.C. Weeks [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1996. – Vol. 14. – № 9. – P. 2511-2520.

162. Using peripheral blood progenitor cells (PBPC) for transplantation in pediatric patients: a state-of-the-art review / M.A. Diaz, J. Kanold, M.G. Vicent [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2000. – Vol. 26. – № 12. – P. 1291-1298.

163. Weaver, C.H. Mobilization of peripheral blood stem cells following myelosuppressive chemotherapy: a randomized comparison of filgrastim, sargramostim, or sequential sargramostim and filgrastim / C.H. Weaver, K.A. Schulman, C.D. Buckner // *Bone Marrow Transplant.* – 2001. – Vol. 27. – № 2. – P. 23-29.

164. Weighing the risks of G-CSF administration, leukopheresis, and standard marrow harvest: ethical and safety considerations for normal pediatric hematopoietic cell donors / M.A. Pulsipher, A. Nagler, R. Iannone, R.M. Nelson // *Pediatr Blood Cancer.* – 2006. – Vol. 46. – № 4. – P. 422-433.

165. Welte, K. G-CSF: filgrastim, lenograstim and biosimilars / K. Welte // *Expert. Opin. Biol. Ther.* – 2014. – Vol. 14. – № 7. – P. 983-993.

166. Wong, E.C. Therapeutic apheresis in pediatrics: technique adjustments, indications and nonindications, a plasma exchange focus / E.C. Wong, R.A. Balogun // *J. Clin. Apher.* – 2012. – Vol. 27. – № 3. – P. 132-137.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Химиотерапевтические курсы лечения и их длительность в зависимости от заболевания

Таблица А.1 – Протоколы химиотерапии нейробластом и ганглионейробластом

Нейробластома протокол	Этап мобилизации (предшествующий курсу)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов для пациентов до 6 мес.	Доза препаратов для пациентов после 6 мес.	Длительность	День начала мобилизации
Нейробластома NB-2004	N 5	Винкристин Цисплатин Этопозид	0,05 мг/кг 1,3 мг/кг 4,2 мг	1,5 мг/м ² 40 мг/м ² 100 мг/м ²	4 дня	10-12 день от начала ХТ
Ганглионейробластома Нейробластома NB-2004	N 6	Винкристин Дакарбазин Ифосфамид Доксорубицин	0,05 мг/кг 6,7 мг/кг 50 мг/кг 1 мг/кг	1,5 мг/м ² 200 мг/м ² 1500 мг/м ² 30 мг/кг	8 дней	10-12 день от начала ХТ
Нейробластома NB-2004	N 4	Винкристин Доксорубицин Циклофосфамид	0,025 мг/кг 0,5 мг/кг 10 мг/кг	0,75 мг/м ² 15 мг/м ² 300 мг/м ²	7 дней	10-12 день от начала ХТ
Нейробластома COG Ганглионейробластома	Топотекан + Су	Топотекан Циклофосфамид	1,2 мг/м ² – (1,2 мг/м ²) – (1,2 мг/м ²) 400 мг/м ² – (1000 мг/м ²) – (13,3 мг/м ²)		5 дней	10-12 день от начала ХТ
Нейробластома противорецидивный	Иринотекан + темодал	Иринотекан Темозоломид	50 мг/м ² – (50 мг/м ²) 150 мг/м ² – (100 мг/м ²)		5 дней	10-12 день от начала ХТ

Продолжение таблицы А.1

Нейробластома протокол	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов для пациентов до 6 мес.	Доза препаратов для пациентов после 6 мес.	Длительность	День начала мобилизации
Нейробластома	ICE	Ифосфамид Карбоплатин Этопозид	1800 мг/м ² 500 мг/м ² 100 мг/м ²		5 дней	10-12 день от начала ХТ
Нейробластома COG	P-VP	Цисплатин Этопозид	50 мг/м ² 200 мг/м ²		4 дня	10-12 день от начала ХТ
Нейробластома Противорецидивный	Винкристин + Темодал + Иринотекан	Винкристин Темозоломид Иринотекан	1,5 мг/м ² 150 мг/м ² 50 мг/м ²		5 дней	10-12 день от начала ХТ

Таблица А.2 – Протоколы химиотерапии ретинобластом

Ретинобластома	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов для пациентов до 6 мес.	Дозы препаратов для пациентов после 6 мес.	Длительность	День начала мобилизации
Ретинобластома NB-2004	N4	Винкрестин Доксорубин Циклофосфамид	0,75 мг/м ² 15 мг/м ² 300 мг/м ²	0,025 мг/кг 0,5 мг/кг 10 мг/кг	7 дней	10-12 день от начала ХТ
Ретинобластома Протокол лечения ретинобластом	1 линия	Винкрестин Карбоплатин Циклофосфамид	1,5 мг/м ² 500 мг/м ² 400 мг/м ²		5 дней	10-12 день от начала ХТ
Ретинобластома CVC	CVC	Карбоплатин Этопозид Циклофосфамид	Карбоплатин Этопозид Циклофосфамид Месна	500 мг/м ² 100 мг/м ² 400 мг/м ²	500 мг/м ² 100 мг/м ² 400 мг/м ²	5 дней 10-12 день от начала ХТ
Ретинобластома НIT-MED 2020	1 курс	Карбоплатин Этопозид MTX интратекально	2000 мг/м ² 1000 мг/м ² 8 мг		4 дня	10-12 день от начала ХТ
Ретинобластома ПХТ 2ой линии	1 курс	Винкрестин Топотекан	1,5 мг/м ² 3 мг/м ²		5 дней	10-12 день от начала ХТ
Ретинобластома CVC+MTX	CVC+MTX	Карбоплатин Этопозид Циклофосфамид MTX интратекально Преднизолон интратекально	500 мг/м ² 100 мг/м ² 400 мг/м ² 12 мг 10 мг		5 дней	10-12 день от начала ХТ

Таблица А.3 – Протоколы химиотерапии и нефробластом

Нефробластома	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов для пациентов после 6 мес.	Длительность	День начала мобилизации
Нефробластома Umbrella SIOP-RTSG 2016	AVD	Дактиномицин Винкристин Доксорубицин	0,45 мг/кг 1,5 мг/м ² 50 мг/м ²	6 недель	21 день
Нефробластома	ICE	Ифосфамид Карбоплатин Этопозид	20000 мг/м ² 500 мг/м ² 100 мг/м ²	3 дня	15 день
Нефробластома	CCE	Циклофосфамид Карбоплатин Этопозид	440 мг/м ² 500 мг/м ² 100 мг/м ²	5 дней	15 день
Нефробластома Umbrella SIOP-RTSG 2016 (противорецидивный)	VI	Винкристин Иринотекан	1,5 мг/м ² 50 мг/м ²	5 дней	10-15 день
Нефробластома Umbrella SIOP-RTSG 2016	CyD	Циклофосфамид Доксорубицин	500 мг/м ² 50 мг/м ²	3 дня	10 день
Светлоклеточная саркома почек SIOP-2016 Umbrella	CyD	Циклофосфамид Доксорубицин	450 мг/м ² 50 мг/м ²	3 дня	10 день

Таблица А.4 – Протоколы химиотерапии медуллобластом

Медуллобластома	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов для пациентов после 6 мес.		Длительность	День начала мобилизации
ОРЕС	3 курс	Циклофосфамид Этопозид Цисплатин Винкристин МТХ(ИТ)	1500 мг/м ² 75 мг/м ² 75 мг/м ² 1 мг/м ² 6 мг		5 дней	10 день
Like-НIT-MED	Схема ОРЕС 3 курс без МТХ(ИТ)	Циклофосфамид Этопозид Цисплатин Винкристин	65 мг/кг 4 мг/кг 3,5 мг/кг 1,5 мг/м ²		3 дня	10 день
НIT-MED 2017/2020	1 элемент 2 курса НIT- SKK	Винкристин Циклофосфамид МТХ(ИТ)	1,5 мг/м ² 800 мг/м ² 12 мг	1 мг/м ² 800 мг/м ² 6 мг (редукция)	3/5 дней	10 день
НIT-MED 2017/2020	4 курс ПХТ	Этопозид Карбоплатин МТХ(ИТ)	150 мг/м ² 150 мг/м ² 8 мг		3 дня	10 день

Таблица А.5 – Протоколы химиотерапии опухолей центральной нервной системы

Другие опухоли ЦНС	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Пинеобластома НIT-MED 2020	4 курс ПХТ	Карбоплатин Этопозид	200 мг/м ² 100 мг/м ²	4 дня	10 день
Анапластическая эпендимома НIT-SKK	3 курс 1-й-элемент	Винкрестин Циклофосфамид	1,0 мг/м ² 800 мг/м ²	3 дня	10 день
Эмбриональная опухоль ЦНС НIT-MED 2017	2 курс НIT-SKK	Винкрестин Циклофосфамид MTX(ИТ)	1,0 мг/м ² 800 мг/м ² 6 мг	5 дней	10 день
Диффузная лептоменингеальная глионейрональная опухоль НIT-MED 2017	1 курс	Карбоплатин Этопозид	200 мг/м ² 100 мг/м ²	5 дней	10 день

Таблица А.6 – Протоколы химиотерапии Сарком Юинга

Саркома Юинга	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Саркома Юинга СЮ-2017	1 курс противорецидивной ПХТ	Гемцитабин Доцетаксел	900 мг/м ² 100 мг/м ²	1,8 день 8 день	12 день
Саркома Юинга СЮ-2017	3 курс противорецидивной ПХТ	Винкристин Доксорубицин Циклофосфамид	2 мг/м ² 37,5 мг/м ² 1200 мг/м ²	2 дня	7-10 день
Саркома Юинга ММСЮ-99	2 курс противорецидивной ПХТ	Винкристин Иринотекан Темозоломид	2 мг/м ² 50 мг/м ² 150 мг/м ²	5 дней	7-10 день
Саркома Юинга СЮ-2017	5 курс проворецидивной ПХТ	Этопозид Карбоплатин Ифосфамид	100 мг/м ² 500 мг/м ² 1800 мг/м ²	5 дней	7-10 день
Саркома Юинга GemTax	3 курс	Гемцитабин Доцетаксел	900 мг/м ² 100 мг/м ²	1,8 день (2 дня) 8 день	12 день
Саркома Юинга VAC-Романцова О.М.	8 курс	Винкристин Циклофосфамид	2 мг/м ² 1200 мг/м ²	1 день	5-10 день
Саркома Юинга VIT протокол терапии СЮ	1 курс противорецидивной ПХТ	Винкристин Иринотекан Темозоломид	1,5 мг/м ² 50 мг/м ² 150 мг/м ²	5 день	10 день
Саркома Юинга ОССЮ СЮ-2017	VDI	Винкристин Доксорубицин Ифосфамид	2 мг/м ² 37,5 мг/м ² 2000 мг/м ²	5 дней	10 день
Саркома Юинга СЮ-2017	2 курс нПХТ	Винкристин Доксорубицин Ифосфамид	2 мг/м ² 30 мг/м ² 2000 мг/м ²	5 дней	10 день

Продолжение таблицы А.6

Саркома Юинга	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Саркома Юинга Противорецидивный VCTopo	3 курс противорецидивной ПХТ VCTopo Рахов	Винкрестин Циклофосфан Топотекан 1,7 мг	2 мг 564 мг 1,7 мг	5 день	10 день
Саркома Юинга ICE	2 курс противорецидивной ICE	Ифосфамид Карбоплатин Этопозид	1800-2000 мг/м ² 400-500 мг/м ² 100-150 мг/м ²	5 день	10 день
Саркома Юинга Противорецидивный VIT	VIT	Винкрестин Иринотекан Темозоломид	1,5 мг/м ² 50 мг/м ² 150 мг/м ²	5 день	10 день
Саркома Юинга VDI	VDI	Винкрестин Доксорубицин Ифосфамид	2,0 мг/м ² 30 мг/м ² 20000 мг/м ²	5 дней	10 день
Саркома Юинга RESTART(рецидив)	RESTART	Этопозид Ифосфамид	100 мг/м ² 1800 мг/м ²	5 дней	10 день
Саркома Юинга СЮ-2017	14 курс ПХТ	Винкрестин Дактиномицин Циклофосфамид	2 мг/м ² 0,75 мг/м ² 1200 мг/м ²	2 дня	7 день

Таблица А.7 – Протоколы химиотерапии сарком мягких тканей

Саркомы мягких тканей/органов	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Саркома мягких тканей шеи CWS 2009	2 курс ПХТ	Винкрестин Иринотекан Темозоломид	2 мг/м ² 50 мг/м ² 100 мг/м ²	5 дней	7-10 день
Внеклеточная Саркома Юинга мягких тканей EuroEwing 2012	VDC	Винкрестин Доксорубин Циклофосфамид	2 мг/м ² 37,5 мг/м ² 1200 мг/м ²	2 дня	5-7 день

Таблица А.8 – Протоколы химиотерапии лимфом Ходжкина

Лимфома Ходжкина	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Лимфома Ходжкина LH-REZ/REF	ViGePD	Преднизолон Винорелбин Гемцитабин Дакарбазин	30 мг/м ² 30 мг/м ² 1000 мг/м ² 375 мг/м ²	28 дней	15 день
Лимфома Ходжкина Противорецидивный	ICE	Ифосфамид Карбоплатин Этопозид	1800 мг/м ² 400 мг/м ² 150 мг/м ²	5 дней	10 день
Лимфома Ходжкина НИИ ДОГ ЛХ-2020	VigePP + Адцетрис	Винорелбин Гемцитабин Прокарбазин Преднизолон Брентуксимаб ведотин	30 мг/м ² 1000 мг/м ² 100 мг/м ² 30 мг/м ² 1,8 мг/кг	28 дней	15 день
Лимфома Ходжкина Противорецидивный	ViGePD+ Адцетрис	Брентуксимаб ведотин Винорелбин Гемцитабин Преднизолон Дакарбазин	1,8 мг/кг 30 мг/м ² 1000 мг/м ² 30 мг/м ² 375 мг/м ²	28 дней	15 день

Таблица А.9 – Протоколы химиотерапии неходжскиных лимфом

Неходжкинские лимфомы	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Диффузная В-крупноклеточная лимфома В-NHL-BFM 95	СС	Ритуксимаб Винкристин Дексаметазон Цитарабин Этопозид Метотрексат Цитарабин Преднизолон	75 мг/м ² 1,5 мг/м ² 20 мг/м ² 2000 мг/м ² 100 мг/м ² 12 мг (ИТ) 30 мг (ИТ) 10 мг (ИТ)	21 день	10-12 день
Лимфома Беркитта В-NHL-BFM 95	ВВ	Винкристин Циклофосфан Метотрексат Доксорубицин Дексаметазон Преднизолон Метотрексат Цитарабин	1,4 мг/м ² 200 мг/м ² 5000 мг/м ² 25 мг/м ² 10 мг/м ² 10 мг (ИТ) 12 мг (ИТ) 30 мг (ИТ)	21 день	10-12 день
Первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома В-NHL-BFM 95	СС	Ритуксимаб Винкристин Преднизолон Цитарабин Этопозид Цитарабин Метотрексат Преднизолон	375 мг 2 мг/м ² 10 мг/м ² 2000 мг/м ² 100 мг/м ² 30 мг (ИТ) 12 мг (ИТ) 10 мг (ИТ)	21 день	10-12 день

Таблица А.10 – Протоколы химиотерапии герминогенно-клеточных опухолей

Герминогенно-клеточная опухоль	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Герминогенно-клеточная опухоль Протокол UKCCSG GСII (проотиворецидивный)	GOP 2 линия	Гемцитабин Паклитаксел Оксалиплатин	800 мг/м ² 80 мг/м ² 130 мг/м ²	1 день	5 день
Герминогенно-клеточная опухоль Незрелая тератома Сиалобластома тканей Протокол МАНО-98	С-ВЕР	Блеомицин Этопозид Цисплатин Циклофосфамид	15 мг/м ² 100 мг/м ² 20 мг/м ² 1,2 г/м ²	5 дней	10 день
Герминогенно-клеточная опухоль МАКЕI-2005	Схема Этопозид/Цисплатин	Этопозид Цисплатин	100 мг/м ² 20 мг/м ²	5 дней	10 день
Герминогенно-клеточная опухоль Опухоль из клеток Сертоли и Лейдига COG	ПIS	Паклитаксел Карбоплатин Ифосфамид	135 мг/м ² 500 мг/мг 1800 мг/м ²	5 дней	10 день
Опухоль из клеток Сертоли и Лейдига	ВЕР	Блеомицин Цисплатин Этопозид	0,4 мг/мг 0,8 мг/кг 4 мг/кг	5 дней	10 день
Герминогенно-клеточная опухоль	С-ЕР	Циклофосфамид Цисплатин Этопозид	1200 мг/м ² 20 мг/м ² 100мг/кг	5 дней	10 день
Герминогенно-клеточная опухоль COG	Циклофосфамид +Топотекан	Циклофосфамид Топотекан	400 мг/кг 1,2 мг/м ²	5 дней	10 день

Таблица А.11 – Протоколы химиотерапии атипичных тератоидно-рабдоидных опухолей (АТРО)

АТРО	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
АТРО мозжечка и области 4 желудочка АТРО-2006	3 курс ПХТ	Винкристин Цисплатин Циклофосфамид Этопозид Метотрексат Преднизолон Цитарабин	2 мг/м ² 90 мг/м ² 600 мг/м ² 100 мг/м ² 15 мг/м ² (ИТ) 7,5 мг/м ² (ИТ) 60 мг/м ² (ИТ)	15 дней	20-22 день
АТРО мозжечка и области 4 желудочка АТРО-2006	4 курс ПХТ	Винкристин Цисплатин Циклофосфамид Этопозид	2 мг/м ² 90 мг/м ² 600 мг/м ² 100 мг/м ²	15 дней	20-22 день

Таблица А.12 – Протоколы химиотерапии рабдомиосарком

Рабдомиосаркома	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Рабдомиосаркома CWS 2014	1 курс 2 линия	Этопозид Карбоплатин Тапотекан	150 мг/м ² 150 мг/м ² 0,4 мг/м ² (ИТ)	4 дней	10 день
Рабдоидная опухоль EU-RHAB 2016	9 курс ПХТ	Винкристин Карбоплатин Этопозид	2 мг/м ² 500 мг/м ² 300 мг/м ²	3 дня	10 день
Рабдоидная опухоль EU-RHAB 2016	3 курс ПХТ	Винкристин Дактиномицин Циклофосфамид	1,5 мг/м ² 0,025 мг/м ² 1500 мг	2 дня	10 день
Рабдомиосаркома NB-2004 По МЖ	N7	Циклофосфамид 150мг Месна	150 мг/м ² 30 мг/м ²	8 дней	12 день
Рабдомиосаркома CWS 2014 2 линия ПХТ	CARBO-ETO-IFO	Карбоплатин Этопозид Ифосфамид	150 мг/м ² 150 мг/м ² 2000 мг/м ²	4 дня (16 недель альтернирующие)	10 день
Рабдомиосаркома Противорецидивная ПХТ	6 курс	Ифосфамид Этопозид Доксорубицин	20100 мг 1870 мг	5 дней	10 день
Рабдомиосаркома CWS 2009	CEV	Винкристин Карбоплатин Эпирубицин	1,5 мг/м ² 500 мг/м ² 150 мг/м ²	5 дней	10 день
Рабдомиосаркома CWS 2014	1 курс 2 линии	Этопозид Карбоплатин Тапотекан	150 мг/м ² 150 мг/м ² 0,2 мг/м ² (ИТ)	4 дня	10 день

Таблица А.13 – Протокол химиотерапии рабдоидной опухоли

Рабдоидная опухоль	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Рабдоидная опухоль EU-RHAB 2016	2 курс специального лечения	Винкрестин Дактиномицин Циклофосфамид	1,5 мг/м ² 0,025 мг/м ² 1500 мг	8 дней	10-12 день

Таблица А.14 – Протоколы химиотерапии других опухолей

Другие опухоли	Этап мобилизации (предшествующий курс)	Комбинация препаратов	Дозы препаратов	Длительность	День начала мобилизации
Параглиома забрюшинного пространства нейробластома	ТОТЕМ	Топотекан Темозоломид	0,75 мг/м ² 150 мг/м ²	5 дней	10 день
Назофарингиальный лимфо-эпителиоподобный рак	10 курс ПХТ	Винбластин Дактиномицин Циклофосфамид	6 мг 1,44 мг 600 мг	8 дней	10 день
Плевропульмональная бластома Протокол терапии плевропульмональной бластомы	3 курс	Винкрестин Иринотекан Темозоломид	1,5 мг/м ² 50 мг/м ² 125мг/м ²	5 дней	10 день
Параменингельная назофарингеальная карцинома ПХТ по протоколу лечения рака носоглотки	6 курс	Винкрестин Дактиномицин Циклофосфамид	5 мг/м ² 1,2 мг 600 мг	2 дня	7 день