

## Применение плериксафора для мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у доноров аллогенного трансплантата

Д.Н. Балашов<sup>1</sup>, Е.Е. Курникова<sup>1</sup>, М.А. Масчан<sup>1</sup>, Ю.В. Скворцова<sup>1</sup>, Л.Н. Шелихова<sup>1</sup>, П.Е. Трахтман<sup>1</sup>, Е.В. Боякова<sup>1</sup>, Е.В. Скоробогатова<sup>2</sup>, Г.А. Новичкова<sup>1</sup>, А.А. Масчан<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва; 117198, Россия, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

<sup>2</sup>ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва; 117513, Россия, Москва, Ленинский просп., 117

**Контакты:** Дмитрий Николаевич Балашов bala8@yandex.ru

Неудачная мобилизация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) перед процедурой цитафереза у доноров аллогенного трансплантата является фактором, негативно влияющим на клеточные характеристики полученного продукта и, как следствие, на результат проводимой терапии. Данное исследование посвящено изучению эффективности и безопасности применения плериксафора в качестве дополнительного альтернативного препарата для мобилизации ГСК при неудачной мобилизации с помощью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ).

Мобилизация ГСК у всех доноров производилась с помощью препарата Г-КСФ в течение 5 дней. Неэффективность такой тактики была констатирована у 17 доноров на 4-й день от начала мобилизации посредством Г-КСФ, в связи с чем всем донорам в данной когорте назначался плериксафор за 11–12 ч до цитафереза.

Данная тактика оказалась оправданной, так как случаев неэффективного применения плериксафора у здоровых доноров зарегистрировано не было, что позволило во всех случаях получить трансплантат с хорошими клеточными характеристиками. В исследовании также был продемонстрирован относительно безопасный профиль препарата, сравнимый с Г-КСФ.

Исходя из результатов проведенной работы, сделан вывод об эффективности и целесообразности применения плериксафора в качестве терапии «спасения» трансплантата при неэффективной мобилизации Г-КСФ.

**Ключевые слова:** плериксафор, Г-КСФ, аллогенная трансплантация, гемопоэтические стволовые клетки, мобилизация, альтернативная технология, донор, цитаферез, эффективность, безопасность, побочные эффекты

### Use of plerixafor for hematopoietic stem cells mobilization in allograft donors

D.N. Balashov<sup>1</sup>, E.E. Kurnikova<sup>1</sup>, M.A. Maschan<sup>1</sup>, Yu.V. Skvortsova<sup>1</sup>, L.N. Shelikhova<sup>1</sup>, P.E. Trakhtman<sup>1</sup>, E.V. Boyakova<sup>1</sup>, E.V. Skorobogatova<sup>2</sup>, G.A. Novichkova<sup>1</sup>, A.A. Maschan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitriy Rogachev, Ministry of Health of Russia, Moscow; 1, Samory Mashela st., Moscow, Russia, 117198;

<sup>2</sup>Russian Children's Clinical Hospital, Ministry of Health of Russia, Moscow; 117, Leninskiy ave., Moscow, Russia, 117513

Unsuccessful mobilization of hematopoietic stem cells (HSCs) before apheresis in allograft donor is a factor adversely affecting the characteristics of the obtained cell product and, as a consequence, the therapy outcome. This study investigates the efficacy and safety of plerixafor as an additional alternative drug for HSCs mobilization after unsuccessful mobilization using G-CSF.

Mobilization of HSC in all cases was performed using a preparation of G-CSF during 5 days. The ineffectiveness of this in 17 donors was revealed on the fourth day from the beginning of the mobilization, and therefore plerixafor was administered to all donors in this cohort 11–12 hours before cytapheresis.

Use of plerixafor allowed obtaining a transplant with good cellular characteristics in all cases. Plerixafor safety profile comparable with G-CSF has also been demonstrated.

Based on the results of this study it was concluded about efficacy and feasibility of plerixafor as “rescue” therapy after unsuccessful mobilization with G-CSF.

**Key words:** plerixafor, G-CSF, allogeneic transplantation, hematopoietic stem cells, mobilization, alternative technology, donors, apheresis, efficacy, safety, side effects

### Введение

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) стала стандартным методом терапии при целом ряде гематологических, онкологических, иммунологических заболеваний и редких врожденных синдромов.

Несмотря на то, что прогресс в развитии данной технологии очевиден, до сих пор остается нерешенным

целый ряд важных вопросов, в частности проблема подготовки клеточного продукта с адекватными характеристиками при неудачной мобилизации гемопоэтических предшественников у аллогенных доноров или реципиентов аутологичного трансплантата. Минимальным количеством, при котором можно рассчитывать на мультилинейное приживление и гемопоэти-

ческую реконституцию, принято считать дозу CD34<sup>+</sup>-клеток  $\geq 2 \times 10^6$ /кг массы тела реципиента, хотя оптимальное количество, безусловно, выше и составляет  $\geq 5 \times 10^6$ /кг [1].

Несмотря на то, что появление и коммерциализация гранулоцитарного и гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов (Г-КСФ и ГМ-КСФ) в 80-х годах открыло новые перспективы в трансплантологии, вопрос полностью не снят.

Получение качественного трансплантата у здоровых доноров после мобилизации Г-КСФ в большинстве случаев не представляет серьезной проблемы, хотя и не исключает этого. Факторами риска неудачной мобилизации являются старший возраст донора, наличие диабета и низкий уровень тромбоцитов в периферической крови [2, 3].

Содержание CD34<sup>+</sup>-клеток в крови  $\leq 20$ /мкл после мобилизации является показателем, снижающим вероятность заготовки качественного продукта, от которого во многом зависит исход проводимой трансплантации. Это, безусловно, служит аргументом для изучения альтернативных эффективных методов мобилизации.

Важную роль в фиксации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) к строме костного мозга играют хемокиновый рецептор CXCR4, расположенный на поверхности клетки, и его лиганд – фактор стромальных клеток 1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ ). Блокада CXCR4 и нарушение его взаимодействия с лигандом SDF-1 $\alpha$  лежит в основе активности плериксафора. Именно невозможность фиксации гемопоэтических предшественников к строме приводит в результате к увеличению их циркулирующего пула.

В I фазе исследования плериксафора, результаты которого опубликованы S. Devine et al. [4], было продемонстрировано, что при его подкожном применении происходит шестикратное увеличение циркулирующих CD34<sup>+</sup>-клеток у пациентов с множественной миеломой и неходжкинской лимфомой. Обнадеживающие предварительные данные легли в основу серии исследований, продемонстрировавших безопасность и эффективность препарата в данной когорте пациентов, в том числе в сочетании с Г-КСФ [5–7].

Однако возможность его использования для мобилизации CD34<sup>+</sup>-клеток у здоровых доноров для проведения аллогенной ТГСК также активно исследуется. С. Wolschke et al. [8] опубликовали данные об эффективности применения препарата на 4-й или 5-й день стимуляции Г-КСФ у родственных HLA-идентичных доноров. S. Devine et al. [9] исследовали возможность применения плериксафора в качестве единственного препарата (без сочетания с Г-КСФ) для мобилизации гемопоэтических клеток у доноров аллогенного трансплантата. Эффективность такой тактики была продемонстрирована в 92 % случаев. В этой же работе были даны качественные характеристики полученного продукта. В частности, несмотря на то что количество

CD34<sup>+</sup>-клеток в мобилизованном плериксафором трансплантате оказалось в 2–3 раза меньше, чем после Г-КСФ, сроки приживления и восстановления всех 3 линий гемопоэза, а также время иммунологической реконституции в обеих группах не отличались. По мнению S. Fruehauf et al. [10], это можно объяснить наличием в мобилизованном плериксафором продукте значительного количества менее зрелых CD34<sup>+</sup>-клеток, что и определяет возможность эффективного использования такого трансплантата, несмотря на меньшее содержание в нем CD34<sup>+</sup>-клеток.

Интересным также стало наблюдение о значительно большем содержании CD34<sup>+</sup>-клеток в продукте после применения плериксафора по сравнению с Г-КСФ-мобилизованным трансплантатом, что, вопреки ожиданиям, не отражается, по данным S. Fruehauf et al. [10], на частоте и тяжести развития реакции «трансплантат против хозяина». Значительно меньшая поляризация Т-лимфоцитов, а также появление в продукте большого количества Т-регуляторных клеток при использовании плериксафора является сегодня единственным объяснением такого наблюдения [11].

Интерес к плериксафору как к альтернативному препарату для мобилизации ГСК в настоящее время чрезвычайно велик, что и стало поводом для изучения его эффективности и безопасности у здоровых доноров ГСК периферической крови для аллогенной трансплантации.

#### Материалы и методы

С февраля 2009 по март 2014 г. плериксафор (Mozobil®, “Sanofi”) использовался в ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева для сбора ГСК периферической крови у 17 доноров аллогенного трансплантата ГСК периферической крови. Решение о необходимости назначения данного препарата принималось только после констатации неудачной попытки мобилизации с помощью Г-КСФ.

В соответствии с принятым в клинике протоколом, мобилизация ГСК у доноров производилась посредством Г-КСФ в дозе 8–12 мг/кг подкожно 1 раз в день в течение 5 дней. Эффективность протокола оценивалась на основании определения уровня CD34<sup>+</sup>-клеток в крови донора на 4-й день от начала мобилизации Г-КСФ. Достаточным считался уровень CD34<sup>+</sup>-клеток  $\geq 20$ /мкл крови. Заготовка клеток производилась на 5-й день через 2–3 ч после последней инъекции Г-КСФ на автоматических сепараторах CobeSpectra или CobeOptia (Terumo BCT) со стандартным программным обеспечением.

В случае если уровень CD34<sup>+</sup>-клеток был  $< 20$ /мкл, введение препарата Г-КСФ продолжалось, однако за 11–12 ч до запланированного цитафереза назначался плериксафор. Для оценки эффективности назначения плериксафора перед началом заготовки проводился контрольный подсчет количества CD34<sup>+</sup>-клеток в периферической крови донора.

После окончания сеанса цитафереза в полученном продукте оценивалось количество  $CD34^+$ -клеток и при необходимости принималось решение о дополнительной процедуре цитафереза, которая осуществлялась на следующий день после повторного введения плериксафора и Г-КСФ.

### Результаты

С февраля 2009 по май 2014 г. было выполнено 90 аферезов ГСК периферической крови в связи с необходимостью выполнения аллогенной родственной или гаплоидентичной трансплантации. В 17 (18,8 %) случаях мобилизация с помощью Г-КСФ была признана неэффективной, что и послужило основанием для дополнительной мобилизации с помощью плериксафора.

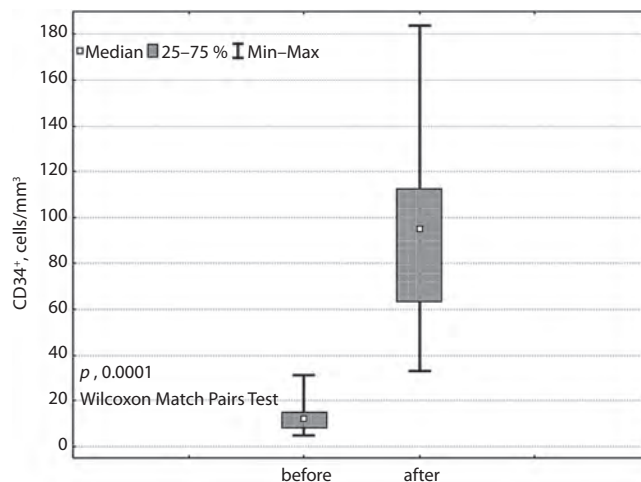
Таким образом, в исследуемую группу вошли 17 доноров (мужчин — 3, женщин — 14) в возрасте от 25 до 49 лет (медиана — 39). Уровень  $CD34^+$ -клеток в крови доноров перед назначением плериксафора в данной когорте составил 4,7–31,2/мкл (медиана — 12,5/мкл). Решение об использовании альтернативного метода мобилизации в 2 случаях было принято несмотря на то, что уровень  $CD34^+$ -клеток (28,3/мкл и 31,2/мкл) превышал пороговое значение и был  $> 20$ /мкл; оно было связано с необходимостью заготовки большего количества клеток, с учетом предполагаемых потерь во время манипуляций с трансплантатом.

В соответствии с протоколом, плериксафор вводился однократно за 11–12 ч до цитафереза в дозе 0,24 мкг/кг, за исключением 2 доноров, получивших препарат в дозах 0,12 мкг/кг и 0,13 мкг/кг из-за его отсутствия в клинике в достаточном количестве.

Уровень  $CD34^+$ -клеток в периферической крови перед цитаферезом составил 33,2–183,7/мкл (медиана — 95,1/мкл) (рисунок). Абсолютное количество  $CD34^+$ -клеток в продукте цитафереза варьировало от  $259 \times 10^6$  до  $770 \times 10^6$  (медиана —  $475 \times 10^6$  клеток). Вынужденная (незапланированная) редукция дозы плериксафора (0,12 мкг/кг и 0,13 мкг/кг) у 2 пациентов не повлияла на эффективность мобилизации; уровень  $CD34^+$ -клеток в крови у этих доноров перед цитаферезом (108/мкл и 136/мкл) и количество заготовленных  $CD34^+$ -клеток ( $555,4 \times 10^6$  и  $475,6 \times 10^6$ ) были высокими и не отличались от показателей, полученных при применении плериксафора в дозе 0,24 мкг/кг.

Случаев неэффективного применения плериксафора у здоровых доноров не зарегистрировано.

В связи со значительным весом реципиентов и необходимостью увеличения клеточных характеристик аллогенного трансплантата, 2 (11,7 %) из 17 доноров была проведена дополнительная стимуляция плериксафором и повторная процедура цитафереза. У первого донора уровень  $CD34^+$ -клеток в крови перед вторым цитаферезом (71,6/мкл) был выше, чем перед первой процедурой (63,1/мкл). У второго донора, напротив,



Количество  $CD34^+$ -клеток на 4-й день применения Г-КСФ (before) и после применения плериксафора (after) в группе здоровых доноров с неудачной мобилизацией ГСК посредством Г-КСФ

после повторного применения плериксафора содержание  $CD34^+$ -клеток в крови сократилось более чем в 4 раза (42,6/мкл) по сравнению с первым днем мобилизации (183,7/мкл).

Побочные эффекты, ассоциированные с применением плериксафора, зарегистрированы у 6 (35 %) доноров из 17: разжижение стула — у 4, в 1 случае это сочеталось с онемением лица, а в другом — с ощущением нехватки воздуха; у одного из доноров была зарегистрирована выраженная инфильтрация и болезненность в области инъекции плериксафора; еще в 1 случае — онемение лица без каких-либо других нежелательных реакций.

### Обсуждение

Основной задачей для изучения альтернативных методов мобилизации ГСК является необходимость получения трансплантата с адекватными клеточными характеристиками. Качество заготовленного продукта является одним из аргументов в пользу эффективного проведения трансплантации и удачного исхода проводимой терапии.

В связи с тем, что в нашем исследовании плериксафор применялся у всех доноров с плохим ответом на Г-КСФ, мы не можем провести анализ стоимости проводимого лечения и оценить исходы в сравнении со случаями применения трансплантата после неудачной мобилизации.

Уже на стадии заготовки клеток неудачная мобилизация, как правило, приводит к значительным расходам, связанным с необходимостью проведения нескольких процедур цитафереза и дополнительной лабораторной оценкой качества продукта. Использование трансплантата с неудовлетворительными клеточными характеристиками, как правило, ведет к отсроченному приживлению трансплантата, т.е. к пролонгации периода аплазии кроветворения, а нередко и к длительной гипопункции трансплантата.

Данная ситуация нередко способствует увеличению риска развития тяжелых инфекционных осложнений и потребности в компонентах крови. Это, в свою очередь, ведет к интенсификации терапии и удлинению периода пребывания в условиях специализированного стационара.

Кроме того, современные подходы к проведению ТГСК все чаще предполагают проведение целого ряда манипуляций с заготовленным продуктом, в частности, селекции и/или деплеции отдельных субпопуляций клеток с чрезвычайно тонкой «настройкой» клеточного состава трансплантата. Для достижения желаемого результата используется каскад лабораторных методов, что нередко приводит к потере части трансплантата, что обуславливает необходимость заготовки избыточного количества гемопоэтических клеток.

### Выводы

Учитывая вышеизложенное, адекватные клеточные характеристики трансплантата являются фактором, не только снижающим стоимость терапии, но также влияющим на выполнимость используемых

протоколов и, как следствие, на результат проводимой трансплантации.

Оценивая побочные эффекты терапии плериксафором, можно сделать вывод о его относительной безопасности, тем более что частота побочных эффектов при использовании Г-КСФ достаточно велика. По данным J. McCullough et al. [12], у здоровых доноров она достигает 76 % (мышечные боли – 37–68 %, головная боль – 15–26 %, сильная слабость – 21 %, тошнота – 3–6 % и сонливость – 0–10 %). Частота побочных эффектов после применения плериксафора в нашем исследовании не является значительной.

Исходя из результатов проведенной нами работы, можно сделать вывод не только об эффективности применения плериксафора, но и о целесообразности его использования в качестве терапии «спасения» трансплантата при неэффективной мобилизации Г-КСФ, что позволяет в достаточной мере планировать получение качественного трансплантата, а, соответственно, и уменьшать дополнительные риски для пациента и контролировать стоимость проводимого лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

- Hopman R.K., DiPersio J.F. Advances in stem cell mobilization. *Blood Reviews* 2014;28:31–40.
- Kuittinen T., Nousiainen T., Halonen P. et al. Prediction of mobilisation failure in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2004;33(9):907–12.
- Ferraro F., Lymperi S., Méndez-Ferrer S. et al. Diabetes impairs hematopoietic stem cell mobilization by altering niche function. *Sci Transl Med* 2011;3(104):article 104ra101.
- Devine S.M., Flomenberg N., Vesole D.H. et al. Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2004;22:1095–102.
- Flomenberg N., Devine S.M., Dipersio J.F. et al. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. *Blood* 2005;106:1867–74.
- Fowler C.J., Dunn A., Hayes-Lattin B. et al. Rescue from failed growth factor and/or chemotherapy HSC mobilization with G-CSF and plerixafor (AMD3100): an institutional experience. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:909–17.
- Sinha S., Gastineau D., Micallef I. et al. Predicting PBSC harvest failure using circulating CD34 levels: developing target-based cutoff points for early intervention. *Bone Marrow Transplant* 2011;46(7):943–9.
- Wolschke C., von Pein U., Klyuchnikov E. et al. Plerixafor (AMD3100) in combination with filgrastim for mobilization of peripheral blood stem cells by HLA-identical sibling donor in setting of allogeneic stem cell transplantation. *EBMT Meeting* 2013, London. P. 702.
- Devine S.M., Vij R., Rettig M. et al. Rapid mobilization of functional donor hematopoietic cells without G-CSF using AMD3100, an antagonist of the CXCR4/SDF-1 interaction. *Blood* 2008;112:990–8.
- Fruehauf S., Veldwijk M.R., Seeger T. et al. A combination of granulocyte-colony-stimulating factor (G-CSF) and plerixafor mobilizes more primitive peripheral blood progenitor cells than G-CSF alone: results of a European phase II study. *Cytherapy* 2009;11:992–1001.
- Fruehauf S. Current clinical indication for plerixafor. *Transfus Med Hemother* 2013;40:246–50.
- McCullough J., Clay M., Herr G. et al. Effects of granulocyte-colony-stimulating factor on potential normal granulocyte donors. *Transfusion* 1999;39(10):1136–40.