

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

З.М. Дышлевая^{1,2}, М.М. Шнейдер¹, Л.Н. Шелихова², Ю.В. Скворцова²,
Е.В. Скоробогатова², А.А. Масчан¹

¹Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава;
²Российская детская клиническая больница Росздрава, Москва

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз у детей, трансплантация у детей, факторы риска, источники гемопоэтических стволовых клеток, осложнения

Заболеваемость острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) составляет 3–5 случаев на 1 000 000 детского населения и занимает по частоте 2-е место после острого лимфобластного лейкоза (приблизительно 15–20% от всех видов лейкозов у детей и подростков). При проведении химиотерапии по современным протоколам более 85% пациентов педиатрической группы достигают полной ремиссии, но лишь у 50% она бывает длительной. Столь низкая безрецидивная выживаемость диктует необходимость проведения первичной селекции пациентов на группы риска и решения вопроса о целесообразности трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК; ТГСК). В течение последних двух десятилетий были проведены многочисленные исследования, посвященные использованию аутологичной и аллогенной трансплантации при ОМЛ у детей, изучению их целесообразности у пациентов различных групп риска, ценности консолидации до ТГСК, оптимизации самой процедуры трансплантации, анализу влияния на выживаемость протокола кондиционирования и характеристик трансплантата, необходимости «очистки» ауто трансплантата и посттрансплантационной иммунотерапии.

Факторы риска

К настоящему времени накоплено достаточно данных, которые позволяют оценить место ТГСК в терапии ОМЛ у детей и подростков. Прежде всего выделяют ряд прогностических факторов, определяющих безрецидивную выживаемость и исход трансплантации при ОМЛ.

FAV-вариант ОМЛ. Согласно данным Европейского регистра [1], M1 с палочками Ауэра, M2, M4Eo-FAV-варианты являются хорошо известными благоприятными вариантами ОМЛ с вероятностью бессобытийной выживаемости 60–80% при проведении современной химиотерапии, основанной на применении интенсивной индукции и интенсивной постремиссионной терапии. До настоящего времени нет единого подхода к терапии больных с этими субвариантами. Если в США M1-, M4-варианты не являются противопоказанием к проведению ТГСК, то в Великобритании, Франции, странах группы VFM трансплантация этим пациентам в первой полной ремиссии (ПР1) не проводится. Открытие полностью трансретиновой кислоты (АТРА), а затем и триоксида мышьяка стало новой вехой в терапии острого промиелоцитарного лейкоза (M3-FAV-вариант), в основе которого лежит специфическая генная реаранжировка t(15;17) с образованием химерного гена *PML-RAR-a*. В связи с превосходными результатами химиотерапии, включающей АТРА и антрациклины, вопрос о проведении трансплан-

тации при данном варианте ОМЛ рассматривается только в случае развития рецидива, тем более что и АТРА, и триоксид мышьяка способны индуцировать повторную полную ремиссию у пациентов, ранее лечившихся как с АТРА, так и без нее [2]. Пациенты с M0-, M6- и M7-FAV-вариантами имеют наихудшую как безрецидивную (БРВ), так и общую (ОВ) выживаемость даже при проведении ТГСК, что диктует необходимость проведения трансплантации уже в ПР1 [3].

Существует достоверная корреляция FAV-варианта ОМЛ с цитохимическими особенностями, иммунофенотипом и цитогенетическими нарушениями (табл. 1).

Цитогенетические нарушения. В настоящее время не вызывает сомнений, что ОМЛ с t(8;21), инверсией 16 или t(16;16) и t(15;17) имеет наиболее благоприятный прогноз. Известно, что наличие дополнительных хромосомных нарушений в этой группе не ухудшает общую выживаемость, а в ряде случаев даже повышает ее – например, сочетание t(8;21) с del(9q). Для пациентов с del(7q) при отсутствии других цитогенетических нарушений исход достоверно не отличается от группы с нормальным кариотипом; более того, наличие del(7q) без нарушений в хромосоме 5 ассоциируется с довольно благоприятным прогнозом [4]. Цитогенетические поломки в хромосомах 3q-, 5, моносомия 7, внутренние тандемные повторы гена FLT3 или сложные цитогенетические нарушения определяют неблагоприятный прогноз заболевания: не только снижается вероятность достижения ремиссии, но и в случае ее достижения сохраняется высокий риск развития рецидива. Таким образом, выигрывают от ТГСК прежде всего больные из группы промежуточного риска, в то время как преимущества в группах низкого и высокого риска выражены существенно меньше. Безрецидивная выживаемость детей с ОМЛ в зависимости от наличия благоприятного, среднего или неблагоприятного кариотипа составляет 78–100, 51–33 и 20–33% соответственно; это доказывает, что у пациентов высокого риска даже ТГСК часто не позволяет преодолеть неблагоприятную биологию заболевания [5].

Деление пациентов на группы риска исходя из цитогенетических нарушений представлено в табл. 2.

Временной интервал между достижением ремиссии и ТГСК. Многочисленными исследованиями показано, что с течением времени прогноз для пациентов улучшается за счет снижения риска развития рецидива: проведение ауто трансплантации до 6 мес после достижения ПР1 ассоциировано с риском развития рецидива в 46% в сравнении с 33% при трансплантации после 6 мес. Наиболее простым объяснением таких различий служит

Таблица 1. Корреляция FAB-варианта ОМЛ с цитохимическими особенностями, иммунофенотипом и цитогенетическими нарушениями

Кариотип	Генетическое повреждение	Преимущественный FAB-вариант	Частота, %
t(8;21)(q22;q22)	<i>AML1-ETO</i>	M2, эозинофилия	12–15
11q23 нарушения	<i>MLL</i>	M4, M5	10–15
t(9;11)(p21–22;q23)	<i>MLL-AF9</i>	M5	6–8
t(15;17)(q22;q12–21)	<i>PML-RARa</i>	M3, M3v	8–10
inv16(p13q22)/t(16;16)(p13;q22)	<i>CBFb- MYH11</i>	M4Eo	6–8
t(10;11)(p13;q21)	<i>AF10-CALM</i>	Разнообразный	2
t(6;9)(p23;q34)	<i>DEK-CAN</i>	M2, базофилия	1
t(8;16)(p11;p13)/(inv8)(p11q23)	<i>MOZ- CBP/TIF2</i>	M4, M5	1
t(1;22)(p13;q13)	<i>RBM15-MKL1</i>	M7	<1
t(3;5)(q25;q34)	<i>NPM-MFL1</i>	M2	<1
t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR-ABL</i>	M1	<1
t(11;20)(p15;q11)	<i>NUP98-TOP1</i>	—	<1
Моносомия 7 или 7q делеция		Дисплазия	2
Трисомия 8		Разнообразный	2
Трисомия 21		M7	2
Сложный (более 3 нарушений)		Разнообразный	10–15
Нормальный		То же	20–25

большой процент пациентов с более химиочувствительным заболеванием и низким риском рецидива среди тех, кто был подвергнут трансплантации более чем через 6 мес от начала химиотерапии, поскольку в этой группе преобладают больные с ремиссией «лучшего качества». Другой причиной повышения безрецидивной выживаемости является проведение дополнительной консолидирующей полихимиотерапии, обеспечивающей редукцию резидуальных опухолевых клеток, — так называемая очистка *in vivo*, а в случае проведения ауто-трансплантации — снижение вероятности контаминации опухолевыми клетками самого трансплантата. Еще в начале 1990-х годов POG 8498 (Pediatric Oncology Group), только интенсифицировав консолидирующую

терапию за счет добавления высоких доз цитарабина, добились повышения 3-летней бессобытийной выживаемости у детей с ОМЛ в среднем до 34% в сравнении с 28% при частоте достижения ПР около 85%. Добавление курса НАМ (высокие дозы цитарабина и митоксантрон) при проведении полихимиотерапии в группе пациентов высокого риска позволило достоверно улучшить безрецидивную выживаемость с 41 до 51%. Оптимальное количество курсов консолидации до проведения ТГСК не определено, хотя ясно, что их должно быть больше одного. Проведение двух или более курсов консолидации является наиболее достоверным фактором, ассоциирующимся со снижением риска рецидива и улучшением общей выживаемости [6].

Таблица 2. Деление пациентов на группы риска в зависимости от цитогенетических нарушений

Благоприятная	Средняя	Неблагоприятная
ОМЛ с t(15;17)(q22;q12–21)	M7-FAB-вариант	ОМЛ с моносомией 7 или -7(q)
ОМЛ с inv(16)(p13q22) или t(16;16)(p13;q22)	ОМЛ с нормальным кариотипом	ОМЛ с t(6;9)(p23;q34)
ОМЛ с t(8;21)(p22;q22)	FLT3-мутации/FLT-ITD	ОМЛ со сложным кариотипом
ОМЛ с t(9;11)(p22;q23)	MLL-амплификация	Вторичный ОМЛ
ОМЛ у детей с синдромом Дауна	Экспрессия АТР-АВС-транспортёров	МРБ(+) после двух курсов интенсивной терапии
ОМЛ у детей в возрасте 1 года	Повышенная экспрессия EVI-1	

Таблица 3. Тактика проведения ТГСК у детей в зависимости от группы риска

Статус ОМЛ	Аллогенная ТГСК			Аутологичная ТГСК
	совместимый родственный донор	частично совместимый родственный/неродственный донор	частично совместимый неродственный донор	
ПР 1 (низкий риск)	УР	ЭИ	НР	УР
ПР 1 (средний или высокий риск)	Р	УР	ЭИ	Р
ПР 2	Р	УР	ЭИ	Р
ПР 3	Р	УР	ЭИ	НР
МЗ, молекулярная персистенция	Р	УР	НР	НР
ПР 2	Р	УР	НР	Р
Рецидив или рефрактерное течение	Р	ЭИ	НР	НР

Примечание. Р – рекомендовано, УР – условно рекомендовано, НР – не рекомендовано, ЭИ – на этапе исследования.

Статус заболевания на момент проведения трансплантации. Как известно, около 30% пациентов имеют рефрактерное течение ОМЛ и не достигают ремиссии при проведении стандартной индукционной терапии, что определяет крайне неблагоприятный прогноз в этой группе пациентов: 5-летняя безрецидивная выживаемость не превышает 20–22% [7, 8]. В настоящее время все без исключения исследовательские группы сходятся во мнении, что трансплантация у детей и подростков с рефрактерным течением ОМЛ должна быть осуществлена максимально быстро, вплоть до использования ее в качестве первой линии терапии. Основными неблагоприятными факторами, влияющими на выживаемость в этой группе пациентов, являются наличие более 25% бластов в костном мозге или циркулирующих бластов в периферической крови к моменту проведения трансплантации, неблагоприятный цитогенетический вариант лейкоза, а также использование ГСК от неродственного донора. Основными причинами неудач при проведении трансплантации в этой группе пациентов остаются высокий уровень трансплантационно-ассоциированной смертности (ТАС) – 34–70% и дальнейшая прогрессия заболевания с уровнем рецидивов 44–63%, особенно при неблагоприятном цитогенетическом варианте ОМЛ. С целью улучшения исхода у пациентов из группы высокого риска ведется поиск новых специфических антимиелоидных режимов кондиционирования. Так, в настоящее время исследовательская группа из City of Hope Cancer Center тестирует эффективность комбинации бусульфана, тотального облучения тела (TOT) и этопозида, а группа из Fred Hutchinson Cancer Research Center – включение в трансплантационный режим радиоиммунотерапии.

Возраст пациента к моменту диагностики заболевания. Дети моложе 10 лет имеют более высокую 5-летнюю безрецидивную выживаемость (40,3–76 против 28,3–53%) при более низком уровне ТАС (4 против 16%) в сравнении с детьми старше 10 лет и подростками [9, 10]. Демонстрируемые преимущества в выживаемости связаны не только с меньшей смертностью от токсичности и инфекции у младших детей, но и с меньшей встречаемостью у них неблагоприятных цитогенетических нарушений.

Пол пациента. Пациенты женского пола имеют преимущество в безрецидивной и общей выживаемости. Эта закономерность распространяется как на детей, так и на взрослых, различия составляют от 16 до 40%.

Если в настоящее время не существует сомнений в преимуществе аллогенной трансплантации над аутологичной и полихимиотерапией у детей с ОМЛ высокого риска, при первично-рефрактерном течении ОМЛ и в случае развития рецидива, когда биология заболевания ослабляет успех каких-либо других форм терапии, то окончательный ответ на вопрос о преимуществе аллогенной трансплантации в ПР1 у пациентов из группы промежуточного и низкого риска, который дискутируется в течение последних 20 лет, все еще не получен. И хотя вывод многих исследований (POG, CCG и BGMT 87 [11–13]) довольно категоричен – при наличии родственного совместимого донора аллогенная трансплантация является наилучшим вариантом терапии независимо от категории риска в связи со значительными улучшениями результатов выживаемости, достигнутыми за счет интенсификации консолидирующей терапии, дополнение аутологичной ТГСК также может повысить безрецидивную и общую выживаемость в группе низкого и промежуточного риска при меньшем уровне ТАС и сохранении лучшего качества жизни, что уравновешивает более высокую общую выживаемость при проведении аллогенной ТГСК. Кроме того, даже для пациентов из группы высокого риска, находящихся в ПР, вопрос о целесообразности проведения аллогенной трансплантации в ПР1 остается открытым, так как крупными исследовательскими группами из Франции, Великобритании, EBMT-Pediatric Disease Working Party было показано, что результаты ауто трансплантации в этой группе пациентов сравнимы с результатами аллогенной трансплантации без достоверных преимуществ какого-либо типа трансплантации после проведения четырех курсов интенсивной химиотерапии [14–16].

Тактика проведения ТГСК у детей в зависимости от факторов риска представлена в табл. 3.

Режимы кондиционирования

В течение длительного времени наиболее часто используемый режим кондиционирования при ОМЛ у детей, как и у взрослых пациентов, включал комбина-

цию циклофосфана в дозе 120 мг/кг и ТОТ в дозе 8–12,5 Гр [17]. В 1983 г. исследовательская группа из Балтимора показала, что предложенная в качестве нового режима кондиционирования комбинация бусульфана (Bu) 16 мг/кг и циклофосфана (Cy) 200 мг/кг является эффективной альтернативой ТОТ при меньшем количестве поздних осложнений. Подобные режимы не только позволяют достичь миелоаблативного и иммуносупрессивного эффектов с целью улучшения приживления и предупреждения отторжения трансплантата, но и обеспечивают высокую противоопухолевую активность. В настоящее время представляется, что разница в безрецидивной выживаемости при проведении Cy/ТОТ- и Cy/Bu-содержащих режимов отсутствует; некоторыми преимуществами обладает второй режим при проведении повторных ТГСК у детей, несмотря на большую вероятность развития веноокклюзионной болезни, что компенсируется достоверно более низким риском развития поздних осложнений. Так как повышение интенсивности режима кондиционирования приводит к повышению токсичности без положительного влияния на выживаемость, в течение последнего десятилетия ведутся интенсивные поиски менее токсичных режимов кондиционирования на основании комбинации различных химиотерапевтических агентов (этопозид, тиотепа, мелфалан и др.) при сохранении миелоаблативного и иммуносупрессивного эффектов [18, 19]. В настоящее время особого внимания заслуживает аналог Bu – треоосульфат (L-треитол-1,4-би-метанесульфат, дегидроксисульфат), являющийся предшественником бифункционального алкилирующего цитотоксического агента диэпоксидбутана. Несмотря на низкую органныю токсичность, треоосульфат обладает высокой противоопухолевой и иммуносупрессивной активностью даже при рефрактерном течении ОМЛ, что делает его использование в данной возрастной группе особенно привлекательным.

Научный поиск наиболее оптимальных режимов кондиционирования не ограничивается лишь поиском новых химиотерапевтических агентов. Так как в настоящее время кондиционирование рассматривается в качестве платформы для развития полного донорского химеризма, а обеспечение эффекта «трансплантат против лейкоза» (ТПЛ-эффект) более важно, чем антилейкемическая активность самого кондиционирования, широкое распространение получили так называемые режимы кондиционирования с редуцированной интенсивностью. Этот подход позволяет получать иммунологически значимый ТПЛ-эффект без токсичности миелоаблативной терапии и имеет несомненное преимущество у детей и подростков при наличии у них тяжелых интеркуррентных заболеваний. Первые результаты использования немелоаблативных режимов кондиционирования более чем у 900 пациентов были суммированы EBMT Workshop, при этом особое внимание уделялось ТАС и реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [20]. Согласно этому анализу, вероятность развития острой РТПХ III–IV степени была 12%, экстенсивной хронической РТПХ – 42%, причем риск развития острой и хронической РТПХ зависел от использования в схеме кондиционирования анти-Т-лимфоцитарных антител. Уровень ТАС (20%) был схожим независимо от используемых режимов – ТОТ или Bu 8 мг/кг, или мелфалан 140 мг/кг. Режимы кондиционирования с редуцированной интенсивностью

могут быть рекомендованы даже при рефрактерном течении ОМЛ или при проведении гаплотрансплантации, безрецидивная выживаемость при этом составляет 45–50%. Многообещающими выглядят результаты введения в режимы кондиционирования узконаправленной таргетной терапии, в качестве которой используются многочисленные моноклональные антитела, в том числе радиоантитела (анти CD33⁺-, анти-CD44⁺-, ¹³¹I-анти-CD45-, анти-ГМ-КСФ-антитела), что может стать дополнительным механизмом на пути эрадикации лейкемических клеток и оказать положительное влияние на безрецидивную выживаемость.

Источники ГСК

В качестве источника стволовых клеток при проведении аутологичных и аллогенных трансплантаций большинство центров во всех возрастных группах используют стволовые клетки периферической крови (ПСКК), предпочитая их обычному и стимулированному костному мозгу. Использование ПСКК, начатое в середине 1980-х годов при проведении аутологичных ТГСК, базировалось на двух важных гипотезах. Согласно первой из них, ПСКК обеспечивают более быстрое гематологическое приживление, приводя к снижению ТАС, потребности в заместительных трансфузиях и антибактериальной терапии, что было особенно привлекательным при трансплантации при ОМЛ. Согласно второй гипотезе, ПСКК могут быть менее контаминированы резидуальными лейкемическими клетками, что приводит к снижению частоты рецидивов. С течением времени стало ясно, что при проведении афереза после высокодозной консолидирующей химиотерапии частота рецидивов и общая выживаемость не зависят от выбранного источника. Важно, чтобы проведение аферезов осуществлялось после консолидирующей терапии, которую следует рассматривать как «очистку» *in vivo*. Доказанный необходимый для приживления минимум ядродержащих клеток (ЯСК) при проведении аутологичных трансплантаций составляет 10⁸/кг, при этом доза ЯСК не коррелирует со скоростью гематологического приживления, так как не является фактором, определяющим приживление и рост в культуре, оставаясь при этом высокозначимым для уровня рецидивов. Необходимо отметить, что для ОМЛ характерно отсроченное приживление аутооттрансплантата, связанное не только с высокой интенсивностью предшествующей химиотерапии, но и с нарушением биологии костного мозга на фоне течения основного заболевания. Преодоление этой проблемы возможно путем комбинированного использования Г-КСФ-мобилизованных ПСКК в сочетании с нестимулированным костным мозгом и повышения дозы CD34⁺-клеток, имеющей доказанную прямую корреляцию со скоростью нейтрофильного и тромбоцитарного приживления. В настоящее время доза CD34⁺-клеток, рекомендуемая при проведении ауто-трансплантации, составляет более 2 × 10⁶/кг. К сожалению, не всегда удается провести успешную мобилизацию ПСКК перед аутооттрансплантацией, так как по ходу проведения терапевтических протоколов эффективность мобилизации стволовых клеток снижается. Поэтому лучшие показатели получены при проведении аферезов после одного из ранних химиотерапевтических курсов. Если на ранних этапах адекватные дозы ПСКК могут быть получены после одной процедуры лейкафереза у 70–80% пациентов, то после проведения трех курсов химиотера-

пии у некоторых пациентов успешная мобилизация стволовых клеток невозможна.

Важно помнить, что повышение дозы трансплантированных клеток при аутотрансплантации всегда чревато опасностью контаминации резидуальными лейкоэмическими клетками с повышением риска рецидива. Это требует рассмотрения вопроса о целесообразности проведения «очистки», снижающей вероятность развития рецидива и повышающей общую выживаемость, правда, ценой более высокой частоты инфекционных осложнений, связанных с более медленной кинетикой приживления и иммунореконституции. Исторически основанием для проведения «очистки» стало элегантное исследование М.К. Brenner и соавт. [21], путем генной маркировки доказавших, что в ряде случаев рецидив возникает из ауто-трансплантированных клеток. Дружеское соперничество между теми, кто выступает за оптимизацию «очистки» трансплантата *ex vivo*, и теми, кто против, сохраняется до настоящего времени. Фактически обе стороны верят в необходимость минимизации лейкоэмической контаминации, так как все выступающие против «очистки» *ex vivo* признают важность первичной консолидирующей терапии как варианта «очистки» *in vivo*. С целью очистки ауто-трансплантата могут быть использованы как химиотерапевтические агенты (мафосфамид, этопозид, 4-гидропероксициклофосфамид – 4-НС), обладающие синергичным антилейкемическим действием без токсического воздействия на стволовые клетки, так и моноклональные антитела, например, анти-CD14, анти-CD15 с избирательным цитотоксическим эффектом.

Дозы стволовых клеток, необходимые для приживления при аллогенной трансплантации, были определены довольно рано как для костного мозга (не менее 2×10^6 /кг ЯСК), так и для ПСКК (более 2×10^6 /кг CD34+ -клеток).

Использование более высоких доз стволовых клеток, не влияя на частоту РТПХ, приводит не только к меньшей ТАС, но и к более низкой частоте развития рецидивов, в том числе у пациентов высокого риска при трансплантации от неродственного донора. Можно выдвинуть несколько объяснений подобным результатам: количественное преобладание пула нормальных стволовых клеток может иметь преимущество в росте и дифференцировке над резидуальным пулом опухолевых клеток; большее число трансфузированных мезенхимальных и стволовых клеток, обладающих ветоактивностью (противоопухолевой активностью), индуцирует более выраженный ТПЛ-эффект («трансплантант против лейкоза»).

Выводы многочисленных исследований относительно выбора источника стволовых клеток при проведении аллогенных трансплантаций можно суммировать следующим образом:

- гематологическое и иммунное приживление проходит быстрее при использовании ПСКК в сравнении с костным мозгом, но при этом качество функции трансплантатов сравнимо;
- вероятность развития и тяжесть острой РТПХ сходны у реципиентов костного мозга и ПСКК;
- вероятность развития хронической РТПХ несколько выше у реципиентов ПСКК;
- результаты трансплантации ПСКК и костного мозга — общая и безрецидивная выживаемость — идентичны. И лишь у пациентов в продвинутой фазе заболе-

вания при проведении трансплантации от неродственного или частично совместимого родственного донора предпочтительно использование ПСКК.

Альтернативные трансплантации

Так как только 30% детей с ОМЛ, нуждающихся в проведении трансплантации, имеют HLA-совместимого родственного донора, в последние десятилетия большое внимание привлекает использование альтернативных доноров. Возможные альтернативные источники стволовых клеток включают неродственных доноров, пуповинную кровь и частично HLA-совместимых родственных доноров. Первое упоминание об использовании стволовых клеток от неродственного донора относится к 1976 г., хотя регулярное использование доноров-волонтеров стало возможно только после создания многочисленных регистров доноров. В настоящее время в эти программы включены около 11 млн волонтеров.

Трансплантации от неродственного донора. Вероятность нахождения совместимого неродственного донора в международных регистрах варьирует от 60–70% для жителей Европы до 10% для представителей малых этнических групп. В 2003 г. National Marrow Donor Program (NMDP) были опубликованы оптимальные критерии HLA-совместимости при проведении неродственных ТГСК: при использовании ДНК-основанного метода HLA-типирования рекомендуется совместимость по A-, B-, C- и DRB1-локусам, в то время как влияние на общую выживаемость совместимости по DQB1-, DPB1-, DRB3-, DRB4- и DRB5-локусам остается недоказанным. Исход трансплантации при использовании неродственных доноров у детей с ОМЛ разнообразен, но считается бесспорным, что уровень ТАС в этом случае выше (26–42%) в связи с большей вероятностью развития инфекционных осложнений, острой и хронической РТПХ, что в некоторой степени компенсируется более низкой частотой рецидивов (31–39%). По данным EBMT, 5-летняя общая выживаемость детей с ОМЛ при проведении трансплантации от HLA-совместимого сиблинга составляет 66% в сравнении с 43% при проведении неродственной трансплантации. В ПР2 эти показатели составляют 51 и 47% соответственно. В 2000 г. был опубликован отчет Fred Hutchinson Cancer Research Center о результатах проведения неродственной ТГСК после кондиционирования, включающего Су и TOT, с последующей профилактикой РТПХ циклоспорином (CsA) и метотрексатом. При среднем сроке наблюдения 2,9 года безрецидивная выживаемость составила 50% при трансплантации в ПР1, 28% в ПР2-3 и 7% при трансплантации в рецидиве.

Важными подходами, влияющими на исход неродственной ТГСК, являются:

- селекция пациентов. Предтрансплантационная химиотерапия, индуцирующая ремиссию и редуцирующая лейкоэмический клон, показала свое преимущество и влияние на исход последующей трансплантации, а уровень минимальной резидуальной болезни (МРБ), существующий непосредственно перед ТГСК, прямо коррелирует с риском рецидива;

- селекция доноров. В ходе многочисленных исследований были идентифицированы донорские характеристики, определяющие риск развития посттрансплантационных осложнений. Так, при использовании доноров в возрасте 18–30 лет отмечаются наименьшая вероятность развития острой РТПХ и более высокая

безрецидивная и общая выживаемость пациентов. Использование ГСК от доноров женского пола ассоциируется с более высоким риском развития хронической РТПХ, что может быть обусловлено их большей аллосенсибилизацией в связи с беременностью, без влияния на общую выживаемость. Важную роль в развитии РТПХ и других посттрансплантационных осложнений может играть длительность ремиссии, ЦМВ-статус донора и реципиента и цитокиновый (ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- α) генный полиморфизм донора и реципиента, что диктует необходимость проведения молекулярной селекции доноров;

— улучшение профилактики и лечения РТПХ. Новые препараты, такие как микофенолат мофетил, сиролimus, пентостатин, ингибиторы ФНО- α , анти-Т-лимфоцитарные антитела, улучшили прогноз пациентов с РТПХ, особенно при резистентности к стероидам;

— улучшение контроля над инфекциями, что стало возможным в связи с появлением в последнее десятилетие новых высокоэффективных противогрибковых и противовирусных препаратов. Использование цитотоксических Т-клеток и поликлональных вирусспецифических Т-лимфоцитов показало свою эффективность при лечении цитомегаловирусной, аденовирусной и инфекции вируса Эпштейна — Барр в посттрансплантационном периоде;

— оптимизация претрансплантационного режима за счет четкой коррекции доз миелоаблативных агентов на основании их фармакокинетики с целью редукции токсичности и обеспечения приживления.

Гаплоидентичные трансплантации. Исторически исходы данного варианта трансплантаций были неудачны и ассоциировались с высоким уровнем РТПХ и отторжений. В середине 1990-х годов итальянской группой F. Aversa [22] из Перуджи было сперва теоретически обосновано проведение гаплотрансплантаций от родственного донора, а затем проанализированы их результаты, полученные при использовании различных методов Т-деплеции (*ex vivo* T10B9 моноклональные антитела и *in vivo* лизис Т-клеток иммунотоксином H65-RTA, CD34⁺-позитивная селекция). По данным анализа, уровень приживления составил около 80% при частоте острой РТПХ 16–18%.

Преимуществами гаплотрансплантации являются отсутствие необходимости в длительном поиске неродственного HLA-совместимого донора и в дополнительных финансовых расходах на проведение HLA-типирования, низкая вероятность развития РТПХ в связи с проведением Т-деплеции. Интересен данный вариант трансплантации и тем, что может быть платформой для проведения посттрансплантационных иммунологических воздействий, включая трансфузию донорских лимфоцитов (ТДЛ), НК-клеток, дендритных клеток не только при развитии рецидива, но и для его профилактики у пациентов очень высокого риска. Сама идея использования клеток с целью эрадикации опухолевого клона превосходна. Как было показано итальянской исследовательской группой из Перуджи, мегадозы CD34⁺-клеток обладают не только лучшим потенциалом приживления, но и ветоактивностью, а НК-клетки во многом определяют противоопухолевый иммунитет и наличие несовместимости по KIR-эпитопа (killer inhibitor receptor) обуславливает лучший исход при проведении такого вида трансплантаций за

счет снижения частоты рецидивов. Поэтому некоторые центры, например St. Jude Children's Research Hospital (Мемфис, Теннесси), используют для стимуляции доноров комбинацию Г-КСФ и ГМ-КСФ, что позволяет мобилизовать большее число не только стволовых, но и НК-клеток.

Основными недостатками данного вида трансплантаций являются:

— невысокий уровень приживления (71–89%). В исследовании С. Peters и соавт. [23] вероятность неприживления составила 29% при средней дозе трансфузированных CD34⁺-клеток $21,5 \times 10^6/\text{кг}$. В исследовании R. Handgretinger и соавт. [24] сообщается о 20% вероятности неприживления. Важными факторами, влияющими на уровень приживления и достижение полного донорского химеризма, являются доза трансплантированных Т-клеток (более $5 \times 10^4/\text{кг}$) и использование в кондиционировании TOT;

— более высокая частота рецидивов, так как эффективность трансплантации при ОМЛ определяется интенсивностью ТПЛ-эффекта, который генерируется прежде всего прижившимися Т-лимфоцитами с клинической манифестацией РТПХ, частота и степень выраженности которой при проведении гаплотрансплантации невелики;

— высокий уровень ТАС за счет большей вероятности развития инфекционных осложнений и медленной иммунорекогнитуции вследствие проведения Т-деплеции. У детей показатели ТАС несколько ниже в сравнении со взрослыми пациентами, что объясняется лучшей функцией тимуса у детей, более высокими дозами трансплантированных стволовых клеток и Т-лимфоцитов, что приводит к более быстрой иммунорекогнитуции.

До настоящего времени результаты проведения гаплотрансплантаций в педиатрической группе пациентов с ОМЛ немногочисленны и их успех определяется совокупностью факторов, включающих дозу стволовых клеток, уровень Т-деплеции, интенсивность претрансплантационного режима кондиционирования, степень пре- и посттрансплантационной иммуносупрессии. Общая выживаемость детей с ОМЛ разных групп риска после проведения гаплотрансплантаций колеблется от 27 до 71%, что сравнимо с результатами, достигнутыми на большой группе педиатрических пациентов после проведения неродственной трансплантации и трансплантации пуповинной крови.

В течение последних нескольких лет появились данные о проведении у детей с ОМЛ гаплоидентичных трансплантаций с использованием немиелоаблативного режима кондиционирования, что позволяет снизить ТАС в этой группе предлеченных детей, а высокий риск отторжения при проведении данного варианта трансплантации преодолевается трансфузией мегадоз CD34⁺ стволовых клеток, использованием иммуносупрессивных препаратов в посттрансплантационном периоде. РТПХ в большинстве случаев отсутствует, а иммунное восстановление как Т-, так и В-клеточного звена наблюдается уже в ранние сроки. При проведении немиелоаблативного кондиционирования предпочтительным методом селекции является CD3⁺/CB19⁺-негативная селекция, позволяющая сохранить НК-, мезенхимальные (МСК) и дендритные

клетки, определяющие противоопухолевый и репаративный потенциал.

Трансплантация пуповинной крови. Пуповинная кровь — качественно новый источник стволовых клеток, успешно используемый в педиатрической группе пациентов с гематологическими и негематологическими опухолевыми заболеваниями, получил распространение только в последнее десятилетие. Гематопэтические предшественники были обнаружены в пуповинной крови еще в 1974 г., а первая успешная трансплантация пуповинной крови была проведена в 1988 г. пациенту с анемией Фанкони [25]. В настоящее время в многочисленных банках криорезервировано более 300 000 образцов пуповинной крови.

На основании многочисленных исследований по использованию пуповинной крови можно сделать следующие выводы.

Трансплантация пуповинной крови имеет несколько преимуществ:

- короткое время поиска HLA-совместимой пуповинной крови (в среднем — 13,5 дня);
- меньший риск трансмиссии вирусных инфекций;
- сниженная иммунологическая реактивность, определяющая меньший риск развития острой и хронической РТПХ;
- пролиферативные преимущества, включающие большую скорость клеточного цикла, аутокринную продукцию факторов роста, более длинные теломеры и способность формировать большее количество колоний *ex vivo*.

Недостатками трансплантации пуповинной крови являются:

- повышенный риск отторжения. У детей с ОМЛ высокого риска общая вероятность приживления нейтрофилов составляет лишь 72–78%, причем она колеблется в зависимости от стадии заболевания от 87% при трансплантации в ПР1 или ПР2 до 57% при трансплантации в рецидиве. Общая вероятность приживления тромбоцитов составляет 58%, в ПР1 или ПР2 — 66%, в рецидиве — 39%. Независимыми прогностическими факторами, определяющими большую вероятность приживления и общую выживаемость, являются доза CD34⁺-клеток (более $2,6 \times 10^5/\text{кг}$) и наличие только одного HLA-несовместимого локуса [26]. Поэтому образцы пуповинной крови, содержащие меньшее число CD34⁺-клеток, признаны непригодными к использованию. Повышение дозы стволовых клеток, что может улучшить показатели приживления и выживаемости, возможно как за счет трансплантации двух единиц пуповинной крови, так и за счет экспансии стволовых клеток *ex vivo* до проведения ТГСК. С этой целью могут быть использованы две методики. В первом случае требуется изоляция CD34⁺- и CD133⁺-клеток из свежей или размороженной пуповинной крови с последующей ее инкубацией с ростовыми факторами и цитокинами (Г-КСФ, фактор стволовых клеток — SCF, тромбопоэтин), что позволяет увеличить в 56 раз количество ЯСК и в 4 раза — CD34⁺-клеток. Альтернативным подходом является культивирование клеток пуповинной крови с компонентами гемопоэтического микроокружения, например с МСК, которые могут быть изолированы из фетальных и взрослых тканей [27]. При использовании данной методики в исследовании I. McNiece и соавт. [28] было про-

демонстрировано 10–20-кратное увеличение количества ЯСК и 16–37-кратное — CD34⁺-клеток. Культивированная пуповинной крови с МСК является предпочтительным в связи с легкостью проведения, получением большего количества ЯСК и, самое главное, — с отсутствием необходимости в проведении позитивной селекции, что ассоциируется с потерей ГСК. Кроме того, котрансплантация МСК не только улучшает приживление CD34⁺-клеток, но и снижает риск развития РТПХ за счет иммуносупрессивного эффекта МСК. Подобная стратегия экспансии ГСК открывает новые пути в трансплантации пуповинной крови у подростков и взрослых. Возможность использования нескольких образцов пуповинной крови, один из которых трансплантируется нативным, а другие культивируются с МСК до проведения ТГСК, позволяет получить комбинированный трансплантат, который содержит ГСК, ответственные за отсроченную регенерацию (из неманипулированной пуповинной крови), и ГСК, ответственные за кратковременную регенерацию (при культивировании с МСК). Такая комбинация донорского материала позволяет обеспечить быстрое и долгосрочное приживление.

К недостаткам использования пуповинной крови относится и высокая частота рецидивов в сравнении с таковой при использовании других источников стволовых клеток за счет менее выраженного ТПЛ-эффекта. В то же время при ретроспективном анализе исходов у детей с ОМЛ после трансплантации пуповинной крови, по данным Eurocord Study (2003), отсутствие РТПХ не ассоциировалось с повышенным риском рецидивов, частота которых была сравнима с таковой при трансплантации от неродственного донора. Основным определяющим фактором развития рецидива явилась стадия заболевания: при трансплантации в ПР1 — 10%, в ПР2 — 23%, в рецидиве — 61%. При суммарной 3-летней общей выживаемости 49% безрецидивная составила 42%. Согласно проведенному анализу, не несли прогностической ценности при трансплантации пуповинной крови и три известных прогностических фактора — кариотип, вторичный характер лейкоза, длительность ПР1. Был сделан вывод, что потенциальный противоопухолевый эффект у пациентов с ОМЛ высокого риска не подтверждает гипотезы о недостаточном ТПЛ-эффекте после трансплантации пуповинной крови. Схожий результат был получен и Р.Т. Rubinstein и соавт. [29], сравнившими исход трансплантации неродственной пуповинной крови и костного мозга у детей с ОМЛ: общая и безрецидивная выживаемость при трансплантации HLA-совместимой или HLA-несовместимой по одному локусу неродственной пуповинной крови были идентичны таковым при проведении трансплантации HLA-совместимого неродственного костного мозга при меньшем риске развития острой РТПХ.

Для трансплантаций пуповинной крови характерен и высокий уровень ТАС (до 20%) в первые 100 дней после трансплантации за счет инфекционных осложнений. При повышении дозы трансплантированных ЯСК до $5,2 \times 10^7/\text{кг}$ удается добиться снижения этого показателя до 9%. При сравнении результатов трансплантации пуповинной крови, неродственного костного мозга и Т-деплементированных ПСКК после +100 дня смертность при трансплантации пуповинной крови ниже, чем в группе с Т-деплецией при равной частоте рецидивов.

Таким образом, повышение клеточной дозы, улучшение профилактики и лечения инфекционных осложнений при снижении степени посттрансплантационной иммуносупрессии являются основными путями, улучшающими прогноз у реципиентов пуповинной крови.

Иммунотерапия и ТПЛ-эффект

Хорошо известно, что миелоидные бластные клетки обладают множеством механизмов, приводящих к снижению иммунного ответа, включая снижение экспрессии молекул МНС, секрецию иммуносупрессивных цитокинов, отсутствие костимуляторных молекул, экспрессию цитозинкиназы и т.д. С целью индукции иммунной реактивности при проведении ауто-ТГСК еще в начале 1990-х годов были предприняты попытки использования цитокиновой терапии. Ее целью является достижение лучшего контроля над МРБ за счет активации различных звеньев неспецифического противоопухолевого иммунитета. Первые исследования показали, что рекомбинантный ИЛ-2 может контролировать миелоидные лейкоэмические клетки и что данный подход может быть многообещающим при минимальной токсичности, ограничивающейся лихорадкой и тромбоцитопенией. Несколько позже было показано, что терапия ИЛ-2 способна восстанавливать нарушение функции аутологичных НК-клеток и приводить к ремиссии даже в продвинутых стадиях ОМЛ. Но с течением времени по мере расширения контингента пациентов ажиотаж вокруг использования иммунотерапии ИЛ-2 при проведении аутотрансплантаций несколько уменьшился. Уже на больших группах пациентов было продемонстрировано, что несмотря на высокий биологический ответ рекомбинантный ИЛ-2 имеет ограниченную клиническую активность и его использование само по себе не может рассматриваться как терапевтический метод в посттрансплантационном периоде. Правда, подобный негативный результат может быть связан как с кратковременным использованием ИЛ-2, так и с поздним началом проведения иммунотерапии, в то время как качество иммунной модуляции является критическим для МРБ именно в 1-й месяц после трансплантации. Попытки использования схожих препаратов, таких как гистамин, линомид (roquinimex), несмотря на многообещающие доклинические исследования, показавшие повышение количества и активности НК-клеток на фоне введения препаратов [30], также закончились неудачей, продемонстрировав отсроченную регенерацию тромбоцитов, а при длительном применении – снижение количества и активности НК- и Т-клеток. Этот негативный эффект теоретически может быть объяснен генерацией активированными моноцитами реактивных метаболитов кислорода, которые способны не только ингибировать активацию Т- и НК-клеток, но и приводить к их апоптозу.

Несмотря на отсутствие преимущества при проведении терапии ИЛ-2, поиски механизмов иммунологического воздействия не прекращались, и на сегодняшний день их результаты выглядят многообещающими. Новые стратегии включают не только пассивную иммунотерапию НК-клетками, которая логически очень привлекательна, как при аутологичной, так и при аллогенной трансплантации, но и генерирование длительной иммунологической памяти специфического Т-клеточного ответа. И хотя прямые доказательства спонтанного Т-клеточного ответа при ОМЛ отсутствуют, природа наивного

иммунного ответа, в современном понимании, такова, что мы имеем возможность генерировать его как *in vivo*, так и *in vitro*. В этой связи нельзя не упомянуть о дендритных клетках, являющихся наиболее эффективными антигенпрезентирующими клетками организма. Культивирование дендритных клеток из моноцитов или CD34⁺-предшественников с последующей их активацией специфическими опухолевыми антигенами (опухолевые пептиды, протеины и др.), часто с использованием цитокинов, позволяет добиться синтеза специфических эффекторных Т-клеток. Другим интересным подходом является использование опухолевых пептидов и дендритных клеток для вакцинации *in vivo*, что может улучшить противоопухолевый ответ, хотя проблемой данного подхода остаются частые случаи невозможности изоляции опухолевого антигена. Альтернативной стратегией является соединение опухолевых клеток с дендритными клетками или модулирование функции дендритных клеток за счет использования анти-CD40⁺-антител.

Идентификация уникальных клеточных маркеров, таких как CD44 и CD33, экспрессируемых почти на 90% бластных клеток, и производство конъюгированных с токсинами/радионуклидами специфических антител (например, анти-CD33⁺-калехеамицин иммуноконъюгат) привели к развитию таргетной терапии, обеспечивающей специфическое уничтожение опухолевых клеток.

Однако основным путем эрадикации опухолевого клона в настоящее время считается генерирование ТПЛ-эффекта при проведении аллогенной ТГСК. Сама идея ТПЛ-эффекта была выдвинута еще в 1957 г. D.W.H. Varnes и соавт. [31], которые показали, что у всех мышей с острым лейкозом после проведения миелоаблативного облучения с последующей сингенной трансплантацией развивался рецидив, а у мышей, получивших аллогенный трансплантат и погибших от фатальной РТПХ, при аутопсии не было признаков лейкоза. Из этого исследования было сделано два важных вывода: во-первых, миелоаблативная радиотерапия не ведет к полной эрадикации лейкоэмических клеток, во-вторых, существует антилейкемический иммунный ответ. Именно иммунными механизмами объясняется сниженный риск рецидивов после аллогенной трансплантации в сравнении с аутологичной или сингенной, а также ассоциация между РТПХ и частотой рецидивов. Как известно, использование Т-деплеции у пациентов с ОМЛ, приводя к снижению вероятности развития РТПХ, не влияет на общую выживаемость в связи с повышением частоты рецидивов более чем в 2 раза [32]. Еще одним доказательством существования ТПЛ-эффекта является взаимосвязь между интенсивностью профилактики РТПХ и частотой рецидивов, что подтверждает важность ранней посттрансплантационной иммуносупрессии в контроле рецидивов и определяет различный подход к выбору донора, источника стволовых клеток, интенсивности кондиционирования в зависимости от степени риска развития рецидива у пациента [33].

Результаты проведения ТДЛ показали, что они являются дополнительным терапевтическим методом, способным обеспечить ПР и подтверждающим наличие ТПЛ-эффекта. Использование профилактических ТДЛ имеет целью лечение основного заболевания на уровне МРБ и улучшение иммунной реконституции у реципиентов деплетированного трансплантата. Так как время

проведения профилактических трансфузий является критическим для ТПЛ-эффекта, в некоторых исследовательских центрах первые ТДЛ проводятся в сроки 35–40 дней после трансплантации. К сожалению, потенциал донорских лимфоцитов ограничивается высоким риском развития РТПХ (44%) и цитопении (34%).

Совершенствование современных технологий открывает новое направление исследований в области ТПЛ-эффекта, которое называют «умной» Т-клеточной деплецией. Она включает селективное удаление *in vivo* или *ex vivo* только аллореактивных клеток с целью максимального снижения риска развития РТПХ при сохранении и усилении ТПЛ-эффекта, улучшения приживления и иммунореактивности. Аллореактивные клетки могут быть дезактивированы или удалены с помощью магнитных антител к маркерам активации, иммунотоксину или ризина, конъюгированным с анти-CD25⁺-антителом, либо путем блокады Fas/Fas-лиганда и CD40:40-лиганда или B7:CD28. Альтернативным подходом является проведение трансдукции ретровирусного вектора с тимидинкиназа-суицидным геном в донорские лимфоциты до трансфузии. В последующем эти клетки могут быть элиминированы *in vivo* путем введения терапевтических доз ганцикловира. Проблемой подобного подхода остается невозможность использования ганцикловира в терапии цитомегаловирусной инфекции и невозможность исключения иммуногенности данного продукта.

С целью генетической модификации бластных клеток группой King's College Hospital из Лондона была предложена трансдукция аденоассоциированных генов, кодирующих ИЛ-12 (или ИЛ-2) и CD80, так называемый tAML. Использование ИЛ-12, способного генерировать ТПЛ-эффект независимо от РТПХ за счет повышения Th1-цитотоксического ответа, и интерферона- α в качестве поддерживающей терапии приводит к индукции специфической лейкомиической цитотоксичности и снижению частоты рецидивов.

В настоящее время исследуются специфические опухолевые антигены, способные стимулировать генерацию неаллореактивных лейкоцитоспецифических цитотоксических Т-клеток, в связи с чем исследование антигенов минорной гистосовместимости становится очень актуальным.

Терапия рецидивов после проведения трансплантации

Рецидивы ОМЛ после проведения трансплантации были и остаются основной причиной неудач. Для их лечения может быть проведена высокодозная полихимиотерапия, имеющая целью редуцировать количество лейкомиических клеток, с последующей повторной аллогенной трансплантацией, которая является единственным оправданным вариантом терапии в данной ситуации, или при низком бластозе – альтернирующие курсы полихимиотерапии в сочетании с иммуномодулирующей терапией (ТДЛ, терапия цитокинами, моноклональными антителами). Широко используемая в настоящее время в качестве реиндукции комбинация обладающих синергичным эффектом citarabина, флударабина, идарубицина в сочетании с Г-КСФ (FLAG-режим) способна индуцировать повторную ремиссию у подвергнутых трансплантации пациентов с ОМЛ от 35 до 47%, хотя 5-летняя общая выживаемость при проведении повторной трансплантации редко превышает 30–38%. Это связано в первую очередь с высокой ТАС при проведении интенсив-

ной индукционной терапии (от 9 до 50%), особенно у пациентов после алло-ТГСК, и последующей трансплантации (36–50%). Хотя, как было показано исследователем Сизэла, у пациентов до 10 лет повторная трансплантация может хорошо переноситься без высокой токсичности, что связано с биологическими различиями, определяемыми возрастом. При этом у пациентов, которым первоначально была проведена аутологичная трансплантация, общая выживаемость выше (64 против 36%), как и у пациентов, которым ТГСК была проведена в ремиссии (68 против 22%). При проведении же трансплантации или ТДЛ в рецидиве повторной ремиссии достигают не более 10% пациентов. Благоприятными прогностическими факторами при проведении повторной трансплантации являются сроки рецидива (более 12 мес после первой трансплантации), рецидив после аутологичной трансплантации, полнота ремиссии перед повторной трансплантацией и использование режима кондиционирования на основе Bu. Интересно, что исходы экстрамедуллярных и медуллярных рецидивов при проведении повторной ТГСК достоверно не различаются.

В последние годы в качестве одного из терапевтических подходов при рецидивах ОМЛ после ТГСК стали использоваться ТДЛ. В сравнении с хроническим миелолейкозом, при котором ТДЛ могут индуцировать повторную ремиссию более чем у 80% пациентов, результаты такой терапии при ОМЛ более скромны – частота достижения повторной ремиссии 15–29%. Ограниченная эффективность ТДЛ при ОМЛ может быть обусловлена существованием различных иммунных механизмов, позволяющих лейкомиическим клеткам избежать ТПЛ-эффекта (сниженная регуляция HLA-молекул, дефекты презентации антигенных пептидов, сниженная экспрессия костимулирующих молекул, секреция лейкомиическими клетками цитокинов, ингибирующих активацию лимфоцитов, экспрессия лейкомиическими клетками Fas-лиганда). Другим объяснением меньшей эффективности ТДЛ при ОМЛ является большая скорость пролиферации лейкомиического клона к моменту рецидива. Так как для того, чтобы ТПЛ-эффект при проведении ТДЛ стал клинически значимым, требуется несколько недель или месяцев, пациентам с прогрессирующим заболеванием проводится циторедуктивная химиотерапия до ТДЛ (Chemo-DLI), а последующая ТДЛ приурочена к максимальному снижению уровня лейкоцитов или проводится как консолидирующая терапия в сроки 7–14 дней после химиотерапии. Несмотря на значительную частоту достижения повторной ремиссии (42–63%) [34, 35] общая выживаемость остается предсказуемо низкой – 19–31%, преимущественно за счет экстрамедуллярных рецидивов. Правда, необходимо отметить, что существует лишь несколько проспективных исследований, посвященных эффективности данной стратегии при терапии посттрансплантационных рецидивов ОМЛ. Поэтому до настоящего времени роль подобного подхода в лечении рецидивов после проведения ТГСК остается не вполне ясной.

Заключение

Несмотря на преимущества как аутологичной, так и аллогенной ТГСК в терапии ОМЛ, смертность детей и подростков, особенно при проведении ТГСК в продвинутых стадиях заболевания, остается довольно высокой за счет ТАС и рецидивов. Это доказывает необходимость поиска новых подходов к терапии ОМЛ, таких

как совершенствование режимов кондиционирования, лучшая селекция доноров, проведение посттрансплантационной адоптивной иммунотерапии, совершенствование сопроводительной терапии. Внедрение в практику в последние 10 лет методики молекулярного HLA-типирования уже привело к лучшей селекции неродственных доноров, что обеспечило повышение общей и бессобытийной выживаемости. Достижения в сопроводительной терапии обеспечили снижение уровня инфекционных осложнений и РТПХ: с одной стороны, разработка новых методов диагностики грибковых и вирусных инфекций, внедрение новых антифунгальных и противовирусных препаратов, таких как каспофунгин, микафунгин, вариконазол, сидофавир, лефлунамид, способствовали лучшей профилактике и контролю инфекционных осложнений, с другой стороны, разработка

и использование защитных препаратов, таких как фактор роста кератиноцитов (KGF), субэроиланилидгидроксамовая кислота (SANA), привели к снижению токсического повреждения слизистых оболочек и вследствие этого к редукции острой РТПХ без влияния на ТПЛ-эффект.

Чрезвычайно важными в посттрансплантационном периоде остаются иммунологические методы воздействия, имеющие целью снижение частоты посттрансплантационных рецидивов. Основными путями остаются проведение ТДЛ, в том числе и селективно деплетированных ТДЛ для предупреждения развития РТПХ, и поддерживающей терапии препаратами, направленными против специфических лейкоэмических мутаций, таких как FLT-3, а также разработка и использование специфических вакцин.

Л и т е р а т у р а

1. Locatelli F., Labopin M., Ortega J. Factors influencing outcome and incidence of long-term complications in children who underwent autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission. *Blood* 2003;101:1611—9.
2. Thomas X., Auglaret B., Thiebaut A. Improvement of prognosis in refractory and relapsed acute promyelocytic leukemia over recent years: the role of all-trans retinoic acid therapy. *Ann Hematol* 1997;75:195—204.
3. Garderet L., Labopin M., Gorin N.C. Hematopoietic stem cell transplantation for de novo acute megakaryocytic leukemia in first complete remission: a retrospective study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood* 2005;105:405—9.
4. Swansbury G.J., Lawler S.D., Alimena G. et al. Long-term survival in acute myelogenous leukemia: a second follow-up of the Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1994;73(1):1—7.
5. Ferrant A., Doyen C., Delannoy A. Karyotype in acute myeloblastic leukemia: prognostic significance in a prospective study assessing bone marrow transplantation in first remission. *Bone Marrow Transplant* 1995;15(5):685—90.
6. Wheatley K., Burnett A., Gibson B. Optimising consolidation therapy: Four versus five courses SCT versus chemotherapy - preliminary results of MRC AML 12. *Hematol J* 2002;3:159—60.
7. Forman S., Schmidt G., Nademanee A. Allogeneic bone marrow transplantation as therapy for primary induction failure for patients with acute leukemia. *J Clin Oncol* 1991;9:1570—4.
8. Singhal S., Powles R., Henslee-Downey P. Allogeneic transplantation from HLA-matched sibling or partially HLA-mismatched related donors for primary refractory acute leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:291—5.
9. Godder K., Eapen M., Laver J.H. Autologous hematopoietic stem-cell transplantation for children with acute myeloid leukemia in first or second complete remission: a prognostic factor analysis. *J Clin Oncol* 2004;18:3798—804.
10. Lie S.O., Jonmundson G., Mellander L. A population-based study of 272 children with acute myeloid leukemia treated on two consecutive protocols with different intensity: best outcome in girls, infant and children with Down's syndrome. *Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO). Br J Haematol* 1996;94(1):82—8.
11. Ravindranath Y., Yeager A.M., Chang M.N. et al. Autologous bone marrow transplantation versus intensive consolidation chemotherapy for acute myeloid leukemia in childhood. *Pediatric Oncology Group. N Engl J Med* 1996;334(22):1428—34.
12. Woods W.G., Neudorf S., Gold S. A comparison of allogeneic bone marrow transplantation, autologous bone marrow transplantation and aggressive chemotherapy in children with acute myeloid leukemia in remission. *Blood* 2001;97:56—62.
13. Reiffers J., Stoppa A.M., Attal M. et al. Allogeneic versus autologous stem cell transplantation versus chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia in first remission: the BGMT 87 study. *Leukemia* 1996;10(12):1874—82.
14. Michel G., Leverger G., Leblanc T. et al. Allogeneic bone marrow transplantation vs aggressive postremission chemotherapy for children with acute myeloid leukemia in first complete remission. A prospective study from the French Society of Pediatric Hematology and Immunology (SHIP). *Bone Marrow Transplant* 1996;17(2):191—6.
15. Stevens R.F., Hann I.M., Wheatley K., Gray R.G. Marked improvement in outcome with chemotherapy alone in pediatric acute myeloid leukemia: results of the United Kingdom Medical research Council's 10 AML trial. *MRC Childhood Leukemia Working Party. Br J Haematol* 1998;101(1):130—40.
16. Klingebiel T., Pession A., Paolucci P., Rondelli R. Autologous versus allogeneic BMT in AML: the European experience. Report of EBMT- Pediatric disease Working party. *Bone Marrow Transplant* 1996;18(Suppl 2):49—52.
17. Thomas E.D., Buckner C.D., Clift R.A. et al. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission. *N Engl J Med* 1979;301(11):597—9.
18. Srivastava A., Bradstock K.F., Szeif J. et al. Busulfan and Melphalan prior to autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993;12(14):323—9.
19. Cony-Makhoul P., Marit G., Boiron J.M. et al. Busulfan und melphalan prior autologous transplantation for myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant* 1995;16(1):69—70.
20. Bacigalupo A. Second EBMT workshop on reduced intensity conditioning regimen. *Bone Marrow Transplant* 2002;29(3):191—5.
21. Brenner M.K., Rill D.R., Moen R.C. et al. Gene-marking to trace origin of relapse after autologous bone-marrow transplantation. *Lancet* 1993;341(8837):85—6.
22. Aversa F., Tabilio A., Terenzi A. et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical «three-loci» incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood* 1994;84(11):3948—55.
23. Peters C., Matthes-Martin S., Fritsch G. et al. Transplantation of highly purified peripheral blood CD34+ cells from HLA-mismatched parental donors in 14 children: evaluation of early monitoring of engraftment. *Leukemia* 1999;13(12):2070—8.

24. Handretinger R., Schumm M., Lang P. et al. Transplantation of megadoses of purified haploidentical stem cells. *Ann NY Acad Sci* 1999;872:351—61; discussion 361—2.

25. Gluckman E., Broxmeyer H.A., Auerbach A.D. et al. Hematopoietic reconstitution in patient with Fanconi anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989;321(17):1174—8.

26. Gluckman E., Rocha V., Boyer-Chamard A. et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *N Engl J Med* 1997;337(6):373—81.

27. Zhang Y., Li C., Jiang X. et al. Human placenta-derived mesenchymal progenitor cells support culture expansion of long-term culture-initiating cells from cord

blood CD34+ cells. *Exp Hematol* 2004;32(7): 657—64.

28. McNiece I., Harrington J., Turney J. et al. Ex vivo expansion of cord blood mononuclear cells on mesenchymal stem cells. *Cytotherapy* 2004;6(4):311—7.

29. Rubinstein P.T., Stevens C.E. Placental blood for bone marrow replacement: the New York Blood Center's program and clinical results. *Blood* 2001;98:814a; abstr 3382.

30. Kalland T., Alm G., Stalhandshe T. Augmentations of mouse natural killer cell activity by LS 2626, a new immunomodulator. *J Immunol* 1985;134(6):3956—61.

31. Barnes D.W.H., Corp M.J., Loutit J.F. Treatment of murine leukemia with x rays and homologous bone marrow. *BMJ* 1956;ii:626.

32. Marmont A.M., Horowitz M.M., Gale R.P. et al. T-cell depletion of HLA-identical transplants in leukemia. *Blood*

1991;78(8):2120—30.

33. Weaver C.H., Cliff R.A., Deeg H.J. et al. Effect of graft-versus-host disease prophylaxis on relapse in patients transplanted for acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1994;14(6):885—93.

34. Choi S.J., Lee J.H., Kim S. et al. Treatment of relapse acute myeloid leukemia after allogeneic bone marrow transplantation with chemotherapy followed by G-CSF-primed donor leukocyte infusion: a high incidence of isolated extramedullary relapse. *Leukemia* 2004;18(11):1789—97.

35. Levine J.E., Braun T., Penza S.L. et al. Prospective trial of chemotherapy and donor leukocyte infusions for relapse of advanced myeloid malignancies after allogeneic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2002;20(2):405—12.

ПУПОВИННАЯ КРОВЬ — ИСТОЧНИК СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

В.В. Гришина

РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Ключевые слова: высокодозная химиотерапия, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, источники стволовых клеток, пуповинная кровь

В последние годы для лечения злокачественных новообразований (как солидных, так и гематологических) и ряда неопухлевых заболеваний (наследственные болезни, болезни обмена, системные заболевания соединительной ткани) стали достаточно широко использоваться сверхинтенсивные курсы химиотерапии (высокодозная химиотерапия) с последующим восстановлением кроветворения трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ГСК).

ГСК для трансплантации могут быть получены у одной-двойного HLA-идентичного близнеца (сингенная трансплантация), родственного или неродственного донора, совместимого по основным антигенам HLA (аллогенная трансплантация), или у самого больного (аутологичная трансплантация). До недавнего времени во всех вышеперечисленных случаях ГСК получали из костного мозга (КМ) и/или периферической крови (ПК) [1], однако данные методики не лишены существенных недостатков. В связи с риском развития смертельно опасной реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) при проведении аллогенной трансплантации необходимо наличие HLA-совместимого донора. В этом отношении идеальными донорами ГСК являются HLA-идентичные доноры-близнецы. Такая возможность имеется лишь у единичных больных. Совместимого по основным локусам HLA-системы родственного донора имеют лишь 30—40% больных, а подбор неродственного донора еще более ограничен. В Европе и США созданы регистры добровольных HLA-типированных доноров КМ для лечения больных, нуждающихся в трансплантации. Несмотря на увеличивающееся число зарегистрированных доноров КМ, которое составляет более 8 млн во всем мире, некоторым пациентам невозможно подобрать донора для трансплантации в связи с чрезвычайным полиморфизмом системы HLA [2]. Только 1/3 больных, нуждающихся в аллотрансплантации, возможно подобрать неродственного донора [3]. Для этнических меньшинств вероятность нахождения HLA-совместимого неродственного донора чрезвычайно мала — менее 10% [4]. Поиск донора представляет собой дли-

тельный процесс, и иногда, в случае агрессивного течения опухолевого процесса, пациент не доживает до трансплантации.

Для больных, у которых нет гистосовместимого донора, возможной альтернативой является аутологичная трансплантация КМ и периферических стволовых клеток. Использование аутологичных ГСК, полученных в период уже существующей болезни, несет в себе потенциальную опасность — возможную контаминацию опухолевыми клетками при ретрансфузии. Кроме того, отсутствует реакция «трансплантат против опухоли», что делает малоэффективным использование аутотрансплантата при ряде опухолей. Вышеупомянутые трудности и ограничения использования ГСК, полученных из КМ и ПК, диктуют необходимость поиска новых источников гемопоэтических стволовых клеток, пригодных для проведения трансплантации.

В настоящее время значительно возрос интерес к пуповинной крови как к альтернативному источнику репопулирующих ГСК [4, 5]. Данные клинических исследований на сегодняшний день показали, что пуповинную кровь можно эффективно использовать для трансплантации после проведения высокодозной химиотерапии по поводу многих тяжелых заболеваний крови и наследственных нарушений метаболизма [5—7].

Уже в 1970-е годы было показано, что пуповинная кровь содержит намного больше клеток-предшественников кроветворения, чем обычная кровь детей и взрослых [5], а уже в начале 1980-х годов были успешно проведены первые экспериментальные трансплантации пуповинной крови у животных [8].

Первая трансплантация ГСК, полученных из пуповинной крови сестры (сiblinga), была произведена в 1988 г. шестилетнему ребенку, страдающему анемией Фанкони [9]. В 1993 г. была осуществлена первая успешная трансплантация пуповинной крови от неродственного донора [10]. К настоящему времени по всему миру произведено более 5000 неродственных и около 400 родственных трансплантаций ГСК пуповинной крови как детям, так и взрослым.

В литературе в основном приводятся данные о проведенных аллогенных трансплантациях [11]. Аутологичную транс-