

ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ГЕМОПОЭЗА ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОСЛЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ

А.Ю. Попов, Н.Н. Жуков, С.В. Миненко, Л.Ю. Андреева, В.В. Птушкин

Отделение подростковой и возрастной клинической онкологии ФГУ

Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии

Получение достаточного для быстрого и стабильного восстановления кроветворения числа клеток-предшественников гемопоэза (КПГ) является одним из основных условий безопасного проведения высокодозной химиотерапии. В статье приведен анализ существующих подходов к мобилизации и сбору КПГ, факторов, влияющих на их эффективность. На значительном собственном материале (264 пациента, прошедших процедуры мобилизации) показано, что ни один из факторов прогноза (возраст, множественные курсы химиотерапии в анамнезе, содержание CD34+ клеток в периферической крови в момент сбора и т.д.) не позволяет выявить больных с заведомо неэффективным сбором КПГ периферической крови. В то же время комбинированная мобилизация с использованием миелостимулирующих факторов (гранулоцитарный, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы) и цитостатиков (высокие дозы циклофосфида) у больных с солидными опухолями и множественной миеломой позволяет получить наибольшее число КПГ из периферической крови.

Ключевые слова: клетки-предшественники гемопоэза, высокодозная химиотерапия, содержание клеток-предшественников гемопоэза в периферической крови, гранулоцитарный, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы

PROGNOSTIC FACTORS OF THE EFFICIENCY OF OBTAINING THE AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELLS FOR TRANSPLANTATION AFTER HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY: A REVIEW OF LITERATURE AND THE AUTHORS' DATA

A. Yu. Popov, N.N. Zhukov, S.V. Minenko, L. Yu. Andreyeva, V.V. Ptushkin

Department of Adolescent and Age-Related Clinical Oncology, Federal Research Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology

To obtain a sufficient number of hemopoietic progenitor cells (HPCs) for a rapid and stable recovery of hematopoiesis is one of the major conditions for safe high-dose chemotherapy. The paper analyses the current approaches to mobilizing and collecting HPCs, as well as the factors influencing their efficiency. By using their own large material (264 patients who had undergone mobilizing procedures), the authors have shown that none of predictors (age, a history of multiple courses of chemotherapy, peripheral blood levels of CD34+ cells at sampling, etc.) may identify patients in whom peripheral blood HPCs cannot be certainly ineffectively collected. At the same time, combined mobilization with myelostimulating factors (granulocyte, granulocyte-macrophage colony-stimulating factors) and cytostatics (high-dose cyclophosphamide) yield the greatest quantities of HPCs from peripheral blood in patients with solid tumors and multiple myeloma.

Key words: hemopoietic precursor cells, large-dose chemotherapy, peripheral blood levels of hemopoietic precursor cells, granulocytic, granulocyte-macrophage colony-stimulating factors

Высокодозная химиотерапия (ВХТ) с трансплантацией аутологичных (собственных) клеток-предшественников гемопоэза (КПГ) в настоящее время является терапией выбора для больных множественной миеломой, рецидивами и резистентным течением неходжкинских лимфом, лимфомой Ходжкина. В некоторых клинических ситуациях ВХТ используется и для лечения ряда других опухолей (острый миелоидный лейкоз, герминогенные опухоли, опухоли центральной нервной системы, опухоли семейства саркомы Юинга). В большинстве экономически развитых стран мира ВХТ с трансплантацией аутологичных КПГ является рутинной методикой, которая может осуществляться и в рядовых лечебных учреждениях, имеющих отделения онкологического и/или гематологического профиля. По данным Европейской организации по трансплантации КПГ (ЕВМТ), ежегодное число аутоотрансплантаций, проводимых в Западной Европе, — более 15 тыс. [1], а токсическая смертность, обусловленная ВХТ, не превышает 1—5%.

Безопасность проведения ВХТ и, косвенно, контингент больных и уровень клиник, в которых может осуществляться данный вид лечения, во многом определяется количеством и качеством гемопоэтического материала, используемого для трансплантации; чем быстрее удастся добиться восстановления гемопоэза, тем шире контингент больных, которым может быть проведена ВХТ, и спектр клиник, где может осуществляться этот вид лечения.

Во взрослом организме большинство КПГ постоянно находится в костном мозге (КМ), в связи с чем изначально основным источником КПГ для трансплантации являлся именно КМ. В то же время трансплантация КПГ не позволяет полностью избежать периода глубокой нейтропении и тромбоцитопении, так как для дифференцировки КПГ в зрелые форменные элементы крови требуется определенное время. Главным недостатком КМ является то, что после его трансплантации может наблюдаться значительный разброс сроков до начала вос-

становления гемопоэза. Для достижения безопасного уровня нейтрофилов ($>0,5 \times 10^9/\text{л}$) и тромбоцитов ($>20 \times 10^9/\text{л}$) может потребоваться от 10 до 60 дней и более, при этом группа больных с длительной цитопенией после трансплантации КМ достаточно велика, что приводит к частому развитию жизнеопасных инфекционно-геморрагических осложнений. В связи с этим КМ в качестве самостоятельного (основного) источника КПГ для аутологичной трансплантации в настоящее время используется достаточно редко.

КПГ, полученные из периферической крови (ПК), также способны восстанавливать полноценный гемопоэз после ВХТ. Как известно, популяция КПГ является неоднородной и представлена как ранними (плюрипотентными, незрелыми) клетками, так и более зрелыми предшественниками [2, 3]. Ранние КПГ ответственны за стабильность восстановления гемопоэза, а наиболее зрелые КПГ, способные к быстрой дифференцировке в форменные элементы крови, определяют скорость восстановления кроветворения. Одним из преимуществ КПГ ПК является относительно большее содержание зрелых предшественников, что обеспечивает уменьшение сроков восстановления гемопоэза. Также КПГ ПК содержат и достаточное число ранних предшественников, в связи с чем высокая скорость восстановления гемопоэза сочетается со стабильностью его поддержания в дальнейшем [4–8].

Однако в условиях стабильного гемопоэза содержание КПГ в ПК крайне невелико (2–4% от содержания в КМ) [9], что обуславливает необходимость применения специальных методик, стимулирующих миграцию КПГ из КМ в ПК (мобилизация). Проведение мобилизации позволяет значительно увеличить содержание КПГ в ПК, однако период времени, в течение которого КПГ присутствуют в ПК в достаточном для сбора количестве, составляет в большинстве случаев 1–5 дней. Кроме того, время от начала мобилизации до максимального выброса КПГ в ПК может значительно варьировать, что делает необходимым использование специальных методов мониторинга их содержания в крови.

В настоящее время с этой целью используется метод проточной иммуноцитометрии, позволяющий косвенно оценить число циркулирующих в ПК и полученных в результате сбора КПГ [10]. Метод основан на выявлении и подсчете количества клеток, несущих на своей поверхности особые антигены, например кластер-дифференцировочный антиген 34 (CD34). Этот антиген представляет собой гликопротеин, который присутствует на мембране большинства предшественников кроветворения, но прекращает экспрессироваться в процессе созревания. Обнаружение антигена CD34 способствовало развитию методик мобилизации и сбора КПГ ПК.

Число трансплантированных CD34+ клеток позволяет достаточно точно прогнозировать длительность посттрансплантационной цитопении. Трансплантация $>2 \times 10^6$ на 1 кг массы тела клеток, несущих на мембране этот антиген (CD34+ клеток), приводит к быстрому (в течение 1–3 нед) и стабильному восстановлению гемопоэза у большинства пациентов [11]. Увеличение этой дозы до $3,5\text{--}5 \times 10^6$ CD34+ клеток/кг, по некоторым данным, способно еще больше увеличить вероятность быстрого

восстановления гемопоэза (особенно тромбоцитарного его звена) [12–14]. В то же время минимальное число CD34+ клеток, которое требуется для восстановления гемопоэза, не определено — возможно, потому что многие режимы ВХТ не являются истинно миелоаблятивными. Кроме того, вероятно, скорость восстановления гемопоэза зависит не только от количества, но и от качества трансплантата (соотношение ранних и зрелых КПГ, повреждение КПГ в процессе предшествующего цитостатического лечения и т.д.).

Несмотря на то что в настоящее время имеются некоторые разногласия по поводу оптимальной дозы КПГ ПК, в большинстве трансплантационных центров за минимальный порог, гарантирующий высокую вероятность ($>90\%$) быстрого и стабильного восстановления гемопоэза, принимается уровень 2×10^6 CD34+ клеток/кг. С другой стороны, трансплантация и гораздо меньшего, чем 2×10^6 CD34+ /кг, числа клеток также может сопровождаться восстановлением гемопоэза и достаточно широко используется в рутинной практике у больных, не имеющих альтернативных ВХТ способов лечения. Однако малое число трансплантированных CD34+ клеток обычно приводит к более длительной госпитализации и использованию антибиотиков, а также к увеличению потребности в переливаниях компонентов крови [15].

Таким образом, основным фактором, позволяющим использовать КПГ ПК для трансплантации, является возможность получения их в количестве, достаточном для быстрого восстановления кроветворения. Этот показатель напрямую зависит от эффективности методов мобилизации и сбора КПГ, а также от ряда факторов, связанных с индивидуальными особенностями пациента и течением основного заболевания.

Число циркулирующих в ПК КПГ значительно увеличивается в период восстановления гемопоэза после миелосупрессивной химиотерапии (ХТ) [16]. Например, после использования циклофосфида и этопозиды в высоких дозах содержание КПГ ПК может возрасти до 20 раз и более [17–19]. Режимы, вызывающие большую миелосупрессию, чаще обладают и большим мобилизующим эффектом [20]. Кроме того, мобилизация при помощи цитостатиков, оказывая дополнительный антинеопластический эффект, позволяет контролировать опухоль перед сбором КПГ ПК и уменьшает риск контаминации трансплантата опухолевыми клетками. Однако миелосупрессия, возникающая после проведения интенсивной ХТ, может приводить к развитию инфекционно-геморрагических осложнений, а продленная тромбоцитопения иногда затрудняет процедуру сбора КПГ ПК на сепараторе клеток крови [21]. Другим недостатком метода мобилизации при помощи ХТ являются значительные различия в сроках до начала увеличения содержания КПГ в ПК. Все это ставит под сомнение целесообразность использования данного метода мобилизации, поскольку необходимость борьбы с осложнениями и невозможность проведения сбора у ряда больных перевешивают потенциальный выигрыш от этого относительно недорогого метода.

В экспериментальных и клинических исследованиях было показано, что многие цитокины (гранулоцитарный — Г-КСФ [22, 23], гранулоцитарно-макрофагальный — ГМ-КСФ [24] колониестимулирующие фак-

торы, интерлейкины — ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-8, тромбопоэтин, эритропоэтин и др.) способны в той или иной мере вызывать высвобождение КППГ из КМ-депо. На сегодняшний день наиболее исследованными и используемыми в широкой клинической практике цитокинами, применяющимися для мобилизации КППГ ПК, являются Г-КСФ и ГМ-КСФ. Считается, что их мобилизирующее действие обусловлено способностью активировать ферменты нейтрофилов, нарушающие взаимодействие молекул, отвечающих за фиксацию КППГ к строме КМ [25].

Применение Г-КСФ при нормальной функции гемопоэза сопровождается значительным увеличением концентрации КППГ в крови с ее пиковым значением на 4—7-й день. Отмечено, что доза препарата 10 мкг/кг/сут обладает значимо большей мобилизирующей активностью, чем доза 5 мкг/кг/сут, стандартно используемая для профилактики фебрильной нейтропении [26]. Еще более высокие дозы Г-КСФ (20—50 мкг/кг/сут) хотя и превосходят по мобилизирующему эффекту стандартные дозы, однако это преимущество выражено не столь значительно, и с экономической точки зрения данные режимы рекомендуют применять только в случае недостаточного сбора при стандартном дозировании.

ГМ-КСФ также применяется с целью мобилизации КППГ ПК [22]. Тем не менее в ряде исследований было показано, что мобилизирующий эффект ГМ-КСФ уступал таковому от аналогичной дозы Г-КСФ, и препарат вызывал больше таких побочных действий, как лихорадка, миалгии и болезненность в месте инъекций [24, 26]. Несмотря на то что данные этих исследований неоднозначны, в настоящее время для мобилизации КППГ ПК в основном используется Г-КСФ, что, возможно, обусловлено его лучшей переносимостью. В то же время существуют данные о том, что использование цитокинов для мобилизации может оказывать мобилизирующее влияние и на злокачественную опухоль (способствовать опухолевой контаминации трансплантата) [28, 29]. Несмотря на отсутствие доказательств клинической значимости подобных наблюдений, монотерапия Г-КСФ или ГМ-КСФ в настоящее время используется в основном у пациентов с контролируемым опухолевым процессом (в состоянии ремиссии).

Наиболее часто используемым способом мобилизации в фазе стабильного кроветворения (отсутствие введения цитостатиков в предшествующие 4—5 нед и нормальные или близкие к таковым показатели ПК) является назначение Г-КСФ (негликозилированного — филграстим или гликозилированного — ленограстим) в течение 5—6 дней в дозе 10—12 мкг/кг/сут, подкожно. На 4, 5 и 6-й дни мобилизации (в период максимального содержания КППГ в ПК) осуществляется сбор КППГ ПК на сепараторе клеток крови.

Применение стандартной ХТ с последующим назначением гемоцитокинов позволяет увеличивать мобилизирующий эффект цитостатиков и при этом снижает риск контаминации трансплантата и/или прогрессирования опухоли [30, 31]. Воздействие КСФ на миграцию КППГ в ПК позволяет также избегать необходимости назначения более высоких доз цитостатиков для увеличения результативности сбора, и интенсивные режимы ХТ используются только при необходимости усиления про-

тивоопухолевого эффекта [32, 33]. Помимо этого, цитокины снижают риск развития глубокой цитопении (и, соответственно, инфекционных осложнений) после ХТ. ХТ же, в свою очередь, позволяет контролировать опухоль перед началом сбора КППГ ПК, что может иметь большее значение для больных с быстро прогрессирующими новообразованиями [30, 34].

Доза Г-КСФ, используемая в комбинации с ХТ, чаще всего составляет 5 мкг/кг/сут. Введение цитокинов начинают через 1—5 дней после окончания ХТ и продолжают до завершения сбора КППГ ПК. Сбор КППГ ПК осуществляется на фоне начала восстановления гемопоэза при наличии в ПК достаточного числа CD34+ клеток [35—37].

При любом виде мобилизации крайне важным является выбор оптимального времени начала сбора КППГ ПК, так как срок, в течение которого эти клетки в достаточном количестве находятся в ПК, ограничен несколькими днями. В случае если для мобилизации применяется только КСФ, максимальное содержание КППГ в периферической крови наблюдается на 4—7-й дни мобилизации. В связи с этим сбор КППГ ПК обычно проводят без предварительного лабораторного контроля, который используется лишь у пациентов с высоким риском неэффективности мобилизации (неудача первого сбора, высокая предлеченность и т.д.). У пациентов, получающих комбинированную мобилизацию (ХТ + КСФ), пик содержания КППГ в ПК наблюдается в гораздо более переменные сроки, что требует обязательного лабораторного контроля за их содержанием. Как было сказано выше, для выявления оптимального времени начала сбора рекомендуется ориентироваться на число CD34+ клеток в ПК. Методы прогнозирования начала сбора, основанные на определении уровня лейкоцитов крови, хотя и обладают некоторой предсказательной способностью, однако весьма неточны: уровень лейкоцитов, при котором рекомендуется начинать сбор КППГ ПК, варьирует от исследования к исследованию в очень широких пределах (от 1 до $10 \times 10^9/\text{л}$), что, возможно, зависит от режима мобилизации и контингента больных, включенных в исследование.

Несмотря на разработку эффективных методов мобилизации и сбора, примерно у 20—30% больных не удается получить достаточного для трансплантации числа КППГ ПК или их количество является субоптимальным. В многочисленных исследованиях был выделен ряд факторов, потенциально способных ухудшать результаты мобилизации и сбора КППГ ПК. Предполагалось, что возраст является одним из факторов, способных отрицательно повлиять на результативность мобилизации, так как существуют данные о том, что у пожилых пациентов отмечается снижение резервов кроветворения и функциональной активности КППГ [38, 39]. В то же время в исследовании на моделях животных было показано, что в более старшей группе результативность сбора была в 5 раз выше по сравнению с более молодыми особями [40]. Авторы объясняли этот факт ослаблением связи между КППГ и стромой КМ. Клинические исследования в данной области проводились N. Boiret и соавт. [41], которые сравнили иммунофенотипические профили и способность к колониеобразованию КППГ ПК детей и взрослых. Авторы не выявили существенных различий по исследуемым показателям

в зависимости от возраста пациентов. В исследовании S. Guba и соавт. были проанализированы данные 225 больных множественной миеломой, которым проводилась мобилизация комбинацией циклофосфамида в высоких дозах и КСФ. Возраст 57 больных, включенных в исследование, составлял более 60 лет. Никаких различий в результатах мобилизации и сбора, а также в длительности восстановления гемопоэза после трансплантации отмечено не было. Аналогичные данные были получены и в работе E. Jantunen и соавт. [42], сравнивавших эффективность мобилизации у больных множественной миеломой старше 65 лет и у более молодых пациентов. Таким образом, в настоящее время показано, что пожилой возраст не является фактором неблагоприятного прогноза в отношении эффективности мобилизации и сбора КПП ПК.

Как было сказано выше, сегодня в рутинной практике для мобилизации КПП ПК используются 2 вида колониестимулирующих факторов — Г-КСФ (гликозилированный и негликозилированный) и, реже, ГМ-КСФ. В ряде исследований было выявлено, что использование Г-КСФ позволяет сократить длительность мобилизации [43] и увеличить результативность сбора [27, 44–47]. Тем не менее результаты исследований, как и данные о сопоставлении эффективности гликозилированных и негликозилированных форм Г-КСФ, неоднозначны.

В рутинной практике Г-КСФ и ГМ-КСФ в целях мобилизации чаще всего применяются 1 раз в сутки. Однако, с учетом фармакокинетики препаратов, было выдвинуто предположение, что при неизменной суточной дозе введение препаратов с 12-часовым интервалом может повысить эффективность мобилизации. В своем исследовании V. Roy и соавт. [48] сравнили эффективность 2 режимов введения Г-КСФ у 30 больных раком молочной железы. В 1-й группе препарат вводился по 5 мкг/кг дважды в сутки, во 2-й — 10 мкг/кг 1 раз в сутки. Несмотря на то что обе группы получали одинаковую суточную дозу Г-КСФ, назначение препарата дважды в день привело к получению значительно большего числа CD34+ клеток ($10,6$ и $6,0 \times 10^6$ CD34+/кг соответственно, $p=0,02$). Это исследование подтверждается и другими сообщениями [49].

В ряде испытаний установлено, что некоторые цитостатики обладают долговременным повреждающим действием на КПП и строму КМ. Более того, данный эффект может быть кумулятивным и незначимые изначально повреждения могут приводить к существенному уменьшению числа КПП и снижению их функциональной активности. В связи с этим вопрос о выборе режима ХТ для мобилизации (баланс между противоопухолевой эффективностью и повреждающим КПП эффектом) крайне актуален. Кроме того, с учетом наличия кумулятивной токсичности, немаловажным является вопрос об этапе лечения, на котором должны получаться КПП ПК.

В случае если основной (первичной) задачей ХТ служит именно мобилизация (а не достижение противоопухолевого эффекта), наиболее часто для этого используется циклофосфамид в высоких дозах, значительный мобилизирующий эффект которого подтвержден в многочисленных исследованиях [50, 51]. Хорошим мобилизирующим действием обладают также этопозид в высоких дозах [52–54], ифосфамид и паклитаксел [31, 55, 56].

В то же время даже в высоких дозах циклофосфамид и этопозид в монотерапии могут не оказывать значительного противоопухолевого эффекта [57]. Спектр противоопухолевой активности ифосфамида и паклитаксела также ограничен. В случаях когда целью назначения цитостатиков является получение дополнительного противоопухолевого эффекта, обычно применяют различные режимы комбинированной ХТ, выбор которых зависит от типа опухоли. Однако при выборе режима необходимо помнить, что использование ряда препаратов приводит к повреждению КПП.

К препаратам, которые, возможно, увеличивают шанс на неудачу при мобилизации и сборе, следует отнести прежде всего мелфалан и кармустин [58, 59], входящие в большинство режимов 2-й линии терапии злокачественных лимфом, являющихся одним из заболеваний, для эффективного лечения которых используется ВХТ. В исследовании P. Dreger и соавт. [63] было показано, что один из важных факторов, отрицательно влияющих на результативность сбора, — число курсов Dexa-BEAM (дексаметазон, кармустин, мелфалан, этопозид, цитозинарабинозид), проведенных пациентом перед мобилизацией. Пациенты с 1 курсом мобилизации Dexa-BEAM или другим режимом имели статистически значимо лучшие результаты сбора, чем больные, получившие более 1 курса Dexa-BEAM ($6,6$ и $1,6 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток соответственно). У больных после 2 курсов Dexa-BEAM и более также отмечалось более длительное восстановление гемопоэза после трансплантации, хотя отчасти это может быть обусловлено меньшим количеством трансплантированных КПП ПК. Более медленное восстановление гемопоэза у лиц, ранее получавших режим Dexa-BEAM, было отмечено и в других исследованиях [59]. Кроме мелфалана и производных нитрозомочевины, к ухудшению результатов мобилизации может приводить и применение флюдарабина, даже в случае если препарат не входил в мобилизационный режим, а использовался на предшествующих этапах лечения [60].

Также в ряде исследований было установлено, что отрицательно повлиять на результаты мобилизации и сбора КПП ПК могут общее число курсов стандартной ХТ, полученной пациентом (предлеченность) [61], и длительность предшествующей ХТ [14, 18].

В связи с сохраняющимися вопросами в отношении факторов прогноза эффективности мобилизации и сбора КПП ПК с целью выработки оптимальной тактики ведения этих больных нами было проведено собственное исследование.

Материалы и методы

Нами проанализированы данные 286 процедур мобилизации КПП ПК, осуществленных у 264 больных (у 2 пациентов было 3 процедуры мобилизации КПП и у 20 — 2 процедуры мобилизации). Процедуры мобилизации и сбора проходили в период с 1995 по 2006 г. на базе Отделения трансплантации костного мозга, интенсивной химиотерапии и реанимации ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

Среди больных, включенных в исследование, было 117 (44,3%) женщин и 147 (55,7%) мужчин, средний возраст которых составлял 33,1 года (от 15 до 65 лет). Все пациенты страдали различными гематологическими (84,6%) и солидными (15,4%) злокачественными новообразованиями (табл. 1).

Таблица 1. *Виды злокачественных опухолей у пациентов, включенных в исследование*

Диагноз	Число больных	
	абс.	%
Гемобластозы		
Лимфома Ходжкина	108	40,9
Неходжкинские лимфомы	94	35,6
Миеломная болезнь	20	7,6
Острые лейкозы	2	0,8
Солидные опухоли		
Герминогенные опухоли	14	5,3
Опухоли семейства ПНЭО*	6	2,3
Мелкоклеточный рак легкого	5	1,9
Другие солидные опухоли	15	5,7

*ПНЭО — примитивные нейроэктодермальные опухоли.

Все больные уже проходили противоопухолевое лечение до начала мобилизации и сбора КППГ. Среднее число курсов ХТ, полученных до первой процедуры мобилизации, составило 10 (от 3 до 33). Пациентов, прошедших ≤ 10 курсов стандартной ХТ, было 64,7%, от 11 до 20 курсов получили 29,9% больных, большее число курсов — 5,4% пациентов. Лучевая терапия на различные зоны проведена 116 (44%) больным.

Для мобилизации нами использовались Г-КСФ (гликозилированный и негликозилированный, различных фирм-производителей) или ГМ-КСФ (могграмостим) в фазе стабильного кроветворения ($n=25$) или после курса миелосупрессивной ХТ ($n=217$). Данные о типе мобилизации у 22 (8,3%) пациентов утеряны. Доза КСФ рассчитывалась в микрограммах на килограмм массы тела больного. Средняя масса тела пациентов, включенных в исследование, составила 70,1 (от 40 до 125) кг.

Пациентам, которым был избран комбинированный тип мобилизации, на первом этапе проводился курс миелосупрессивной ХТ по одной из нижеперечисленных схем (табл. 2).

Таблица 2. *Режимы ХТ, использовавшиеся для мобилизации*

Режимы	Число больных	
	абс.	%
На основе CCNU/BCNU и мелфалана (Dexa-BEAM, ВАЕМ, СЕМ и т.д.)	100	46
С цисплатином (DHP, ESHAP и т.д.)	22	10,1
Высокие дозы циклофосфида	24	11
На основе стандартных доз циклофосфида и антрациклинов (CHOP, CAF, FEC и т.д.)	20	9,3
Многодневные (BEACOPP, Stanford V)	10	4,7
На основе ифосфида (IGEV, ICE, IVAM, VIDE и т.д.)	33	15,2
Другие	8	3,7

Через 1—5 дней после окончания введения цитостатиков больным назначался КСФ, доза которого подбиралась так, чтобы она была максимально приближена к 5 мкг/кг/сут. У ряда пациентов ($n=54$), которые, по мнению врача, могли иметь малоудовлетворительные результаты мобилизации (большое число курсов ХТ в анамнезе, медленное восстановление гемопоэза на фоне мобилизирующего курса ХТ и т.д.), использовались повышенные дозы КСФ (от 7,5 до 20 мкг/кг/сут). В среднем больные получали КСФ в дозе 6,5 (от 3 до 20) мкг/кг/сут. На фоне восстановления гемопоэза (достижения уровня лейкоцитов $>3 \times 10^9/\text{л}$) при технической возможности определялся уровень CD34+ клеток в ПК. Сбор КППГ начинался в случае наличия одного из следующих условий:

- содержание CD34+ клеток > 10 в 1 мкл ПК;
- содержание < 10 , но > 5 CD34+ клеток в 1 мкл на протяжении 2 дней и более на фоне продолжающейся мобилизации и роста уровня лейкоцитов;
- содержание CD34+ клеток < 5 в 1 мкл на протяжении 2 дней и более без тенденции к росту у больных, по мнению врача, не имеющих шанса на осуществление повторного сбора КППГ (агрессивная опухоль и т.д.);
- у больных с неизвестным числом CD34+ клеток в ПК при уровне лейкоцитов $> 5 \times 10^9/\text{л}$ и достижении трансфузионно-независимого уровня тромбоцитов.

Сбор проводился ежедневно на фоне продолжающейся стимуляции до получения $> 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток на каждую планируемую трансплантацию, но не более 6 процедур. В случае значительного падения уровня CD34+ клеток в крови мобилизация и сбор прекращались досрочно.

При сборе в фазе стабильного кроветворения (пациентам, восстановившим кроветворение после предшествующего курса цитостатической терапии) назначали КСФ в дозе 10 мкг/кг. Сбор начинался на 4—5-й день стимуляции и продолжался до получения $> 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток на каждый планируемый курс ВХТ. Досрочная остановка мобилизации и сбора предусматривалась в случае крайне низкой его результативности.

Процедура сбора осуществлялась с использованием сепараторов клеток крови фирмы «Baxter» (CS 3000 Plus или Amicus). Проводили обработку 8—15 л крови. В пределах 24 ч после получения гемопоэтический материал подвергался криоконсервации в парах жидкого азота.

Для определения содержания CD34+ клеток в ПК и полученном гемопоэтическом материале использовался метод проточной иммуноцитометрии. Анализ осуществлялся на проточном цитометре (FACScan Becton Dickinson, США).

Повторные процедуры мобилизации и сбора КППГ ПК были проведены у 20 больных. Поводами для выполнения повторных сборов являлись неудовлетворительные результаты первого сбора или выявление прогрессирования заболевания в процессе сбора (возможность опухолевой контаминации). Повторные процедуры мобилизации и сбора осуществлялись по тем же принципам.

Как минимум один курс ВХТ с трансплантацией полученных КППГ ПК (в комбинации с КМ или без) был проведен 198 (75%) больным. Пациентам со сбором $>2 \times 10^6$ CD34+/кг трансплантация выполнялась либо только с использованием КППГ ПК, либо с добавлением КМ (комбинированный трансплантат). В данной группе больных комбинированный трансплантат использовался только на первых этапах работы в 1980-х годах, когда существовали сомнения в способности КППГ ПК к стабильному длительному восстановлению гемопоэза. У пациентов с меньшим сбором ($< 2 \times 10^6$ CD34+ клеток/кг) решение вопроса о проведении высокодозной ХТ и/или использовании комбинированного трансплантата принималось индивидуально.

Для статистического анализа данных применялась программа SPSS v.13. Непараметрические данные сравнивались на основании теста χ^2 или точного критерия Фишера (в зависимости от числа наблюдений). Кривые восстановления гемопоэза генерировались с использованием метода Каплана — Майера и сравнивались при помощи log-rank-теста.

Результаты исследования

В процессе выполнения процедуры мобилизации и сбора удалось получить в среднем $4,05 \times 10^6$ (от 0 до $26,08 \times 10^6$)/кг CD34+ клеток (табл. 3). Данные о суммарной результативности сбора КППГ отсутствуют у 35 больных (сбор проводился до внедрения методики определения CD34+ клеток или определение не выполнялось по техническим причинам).

Таким образом, в результате применения вышеописанных методик мобилизации и сбора у 56,4% больных получено $>2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток.

Результативность первой процедуры мобилизации и сбора КППГ ПК была статистически значимо выше ($p=0,002$) у больных, страдавших герминогенными опухолями, миеломной болезнью и мелкоклеточным раком легкого (табл. 4).

Несмотря на данные некоторых авторов, свидетельствующие о снижении результативности мобилизации и сбора у пациентов, ранее прошедших значительное число курсов стандартной ХТ, в нашем исследовании такого влияния отмечено не было. Более 2×10^6 /кг CD34+ клеток (здесь и далее — удовлетворительные результаты сбора)

Таблица 3. *Результативность первой процедуры мобилизации и сбора*

Число полученных CD34+ ($\times 10^6$ /кг) клеток	Число больных	
	абс.	%
0—0,5	20	8,7
0,51—1	19	8,3
1,01—2	61	26,6
2,01—5	73	31,9
>5	56	24,5

удалось получить у 63,5% больных, прошедших <10 курсов ХТ, у 48,7% — получивших 11—20 курсов, и у 60,3% пациентов, прошедших большее число курсов ($p=0,14$).

Число курсов стандартной ХТ (включая мобилизационные), которые были проведены пациенту в связи с состоянием, обусловившим необходимость запланировать назначение ВХТ (рецидив, первичная резистентность и т.д.), также не оказало влияния на результативность мобилизации и сбора ($p=0,656$). Более 2×10^6 /кг CD34+ клеток получено у 64,6% больных, прошедших ≤ 5 курсов, у 51,5% — получивших от 6 до 10 курсов и 71,4% пациентов, прошедших большее число курсов.

Также не оказало статистически значимого влияния ($p=0,359$) на эффективность мобилизации и сбора КППГ ПК число линий ХТ, проведенных больному. Однако все же отмечена тенденция к большей результативности сбора у больных, получивших только 1 линию терапии, у которых удалось получить $\geq 2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток в 80% случаев, по сравнению с 41—50% у больных, которым проводилось большее число линий лечения.

Наиболее эффективной (при сравнении с другими видами мобилизации) оказалось применение высоких доз циклофосфида с последующим назначением КСФ (доля успешных сборов — 82,6 и 53% соответственно, $p=0,007$). Использование же режимов с ифосфамидом статистически значимых преимуществ перед остальными режимами мобилизации не имело (доля успешных сборов — 53,3 и 56,7% соответственно,

Таблица 4. *Влияние основного заболевания на результативность первой процедуры мобилизации и сбора*

Основное заболевание	Число больных, получивших $>2 \times 10^6$ /кг CD 34+ клеток	
	абс.	%
Лимфома Ходжкина	90	50,5
Неходжкинские лимфомы	82	51,2
Герминогенные опухоли	7	100
Множественная миелома	20	90
Опухоли семейства ПНЭО	6	33,3
Мелкоклеточный рак легкого	4	100
Другие солидные опухоли	14	64,3

Таблица 5. Влияние уровня лейкоцитов в ПК в первый день сбора КПГ ПК на его суммарную результативность

Уровень лейкоцитов в ПК ($\times 10^9/\text{л}$)	Число больных, получивших $\geq 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток абс.	%
>5	30	63,3
5—10	21	57,1
10—20	35	54,3
20—30	17	47,1
30—40	25	52
>40	12	66,7

$p=0,728$). Вопреки ожиданиям, применение для мобилизации режимов, содержащих препараты, обладающие токсичностью в отношении КПГ (Dexa-BEAM-подобные режимы), не привело к статистически значимому снижению результативности мобилизации и сбора КПГ ПК (доля успешных сборов — 52,8 и 58,8% соответственно, $p=0,387$). Комбинированная мобилизация позволила получить $\geq 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток в 57,8% случаев, в то время как мобилизация в фазе стабильного кровотока — только в 37,5%, однако различие не достигло статистической значимости ($p=0,116$), что, возможно, обусловлено малым числом больных, получивших мобилизацию с использованием только КСФ ($n=25$).

Уровень лейкоцитов в ПК в первый день сбора КПГ ПК (табл. 5) суммарной результативности мобилизации и сбора не предсказывал ($p=0,85$), что согласуется с данными большинства исследований.

Статистически значимое влияние ($p<0,001$) на суммарную результативность мобилизации и сбора КПГ ПК оказало абсолютное число CD34+ клеток в ПК в первый день сбора. Лишь у 21—25% больных с содержанием <10 CD34+ клеток в 1 мкл удалось собрать достаточное для проведения как минимум одной трансплантации число КПГ ПК (табл. 6).

Учитывая, что у подавляющего большинства пациентов, имевших в первый день сбора КПГ ПК >10 CD34+ клеток в 1 мкл ПК, получено достаточное для трансплантации количество гемопоэтического материала, очевидной представляется необходимость продолжения стимуляции и сбора у всех этих больных. В то же

Таблица 6. Влияние абсолютного числа CD34+ клеток в ПК в первый день сбора КПГ ПК на его суммарную результативность

Абсолютное число CD34+ в ПК (кл/мкл)	Число больных, получивших $\geq 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток абс.	%
>5	14	21,4
5—10	24	25
10—20	10	70
20—50	31	61,3
>50	28	92,9

время у пациентов с более низким содержанием CD34+ клеток доля успешных сборов была значительно ниже (21—25%). В связи с этим целесообразным представлялся поиск дополнительных факторов, способных выявлять пациентов, для которых дальнейшее продолжение мобилизации и сбора бесперспективно.

У пациентов ($n=38$), имевших на момент начала сбора <10 CD34+ клеток в 1 мкл ПК, такие факторы, как предлеченность, диагноз, вид и доза КСФ, режим мобилизации, уровень лейкоцитов на момент начала сбора, суммарной результативности сбора не предсказывали. Таким образом, ни один из дополнительных факторов не позволил выявить пациентов, не имеющих шансов на получение достаточного числа КПГ ПК.

При планировании обеспечения сбора КПГ ПК (потребность в КСФ, занятость персонала и вспомогательных служб и др.) большую роль играет возможность выделения группы больных с высокой вероятностью быстрого получения достаточного количества гемопоэтического материала. За 1 сеанс сбора $>2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток удалось собрать у 56 пациентов. Возможность получения за 1 процедуру количества гемопоэтического материала, достаточного для безопасного выполнения как минимум 1 трансплантации, предсказывало только абсолютное содержание CD34+ клеток в ПК в первый день сбора КПГ ПК. Пациентам, у которых абсолютное содержание CD34+ клеток в первый день сбора было <5 и <10 клеток в 1 мкл, потребовалось проведение повторных сборов в 100 и 95,8% случаев соответственно ($p=0,0001$).

Трансплантация гемопоэтического материала, полученного у включенных в исследование больных, привела к восстановлению гемопоэза до момента окончания наблюдения или смерти в посттрансплантационном периоде в подавляющем большинстве случаев (у 95,9% пациентов восстановлен уровень нейтрофилов $>0,5 \times 10^9/\text{л}$, 92% — уровень тромбоцитов $>20 \times 10^9/\text{л}$). Медиана времени до восстановления уровня нейтрофилов составила 10 дней (95% доверительный интервал — ДИ 9,67—10,34), до восстановления уровня тромбоцитов — 11 дней (95% ДИ 10,33—11,67).

Как было отмечено выше, у ряда больных ВХТ с трансплантацией КПГ ПК (с добавлением КМ или без него) проводилась, несмотря на получение $<2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток. В связи с этим мы проанализировали возможность восстановления гемопоэза у пациентов, подвергшихся трансплантации различного числа CD34+ клеток (табл. 7 и 8).

Динамика восстановления уровня нейтрофилов и тромбоцитов у больных, получивших различные дозы CD34+ клеток, статистически

Таблица 7. Восстановление уровня нейтрофилов $>0,5 \times 10^9/\text{л}$ в зависимости от числа трансплантированных $\text{CD}34^+$ клеток

Число трансплантированных $\text{CD}34^+$ ($\times 10^6/\text{кг}$) клеток	Число больных	Медиана времени до восстановления, дни	Уровень не восстановлен (%)
<1	9	11	0
1—1,99	37	10	2 (5,4)
2—5	55	10	1 (1,8)
>5	36	10	2 (5,6)

значимо не различалась ($p=0,51$ и $p=0,75$ соответственно). Однако отмечена тенденция к более длительному восстановлению уровня тромбоцитов у пациентов, получивших $<1 \times 10^6/\text{кг}$ $\text{CD}34^+$ клеток.

Обсуждение

Возможность получения достаточного числа КПП ПК надлежащего качества является одним из основных факторов, обуславливающих безопасность проведения ВХТ. В литературе обсуждается большой спектр факторов, потенциально способных повлиять на эффективность мобилизации КПП ПК. Тем не менее данные испытаний в этой области достаточно противоречивы, а многие опубликованные исследования включали небольшое число пациентов.

В нашем исследовании с участием значительного числа больных было выявлено, что только основное заболевание и использование режима мобилизации с циклофосфамидом способны статистически значимо влиять на эффективность сбора.

У пациентов, страдавших такими заболеваниями, как мелкоклеточный рак легкого, герминогенные опухоли и множественная миелома, удалось получить достаточное для трансплантации число КПП ПК ($2 \times 10^6/\text{кг}$) в 90—100% случаев. В то же время у пациентов с неходжкинскими лимфомами и лимфомой Ходжкина частота успешных сборов составляла около 50%. Это согласуется с данными ряда исследований, свидетельствующих о лучшей результативности сбора у больных, страдающих солидными злокачественными новообразованиями и множественной миеломой. Однако возможно, что этот факт, как минимум отчасти, обусловлен не самим заболеванием, а подходами к его лечению, применявшимися на этапах до проведения мобилизации и сбора КПП ПК. Например, известно, что для лечения пациентов с лимфомами (особенно во 2-й линии и более) часто используются режимы ХТ, содержащие препараты, обладающие потенциальной токсичностью в отношении КПП. Также относительно чаще при лим-

фомах используется лучевая терапия, в том числе и на основные зоны гемопоэза — кости таза, грудину. Высокая результативность сборов характерна и для пациентов, страдающих множественной миеломой. Причины этого до конца неизвестны, однако предполагается, что это может быть обусловлено особыми взаимодействиями между стромой и опухолевыми клетками в КМ (продукция клетками стромы ИЛ-6 и др.) при данном заболевании.

Использование высоких доз циклофосфида в качестве режима мобилизационной ХТ сопровождалось статистически значимо большей частотой получения достаточного для трансплантации числа КПП ПК (82,6% против 53% у пациентов, получавших другие виды мобилизации, $p=0,007$). Несмотря на то, что наблюдаемое различие отчасти может быть объяснено различными популяциями больных, получавших мобилизацию с применением высоких доз циклофосфида (пациенты с множественной миеломой, больные, находящиеся в ремиссии и не нуждающиеся в дополнительной противоопухолевой терапии с использованием режимов, токсичных для КПП), оно согласуется с данными большинства исследований о высокой мобилизационной способности циклофосфида. Это должно учитываться при выборе режима мобилизации у пациентов, которые, по мнению врача, имеют малый шанс на получение достаточного для трансплантации числа КПП ПК.

Весьма важными нам представляются данные о том, что применение в качестве мобилизационного режима курса ХТ по схеме Деха-ВЕАМ не приводит к ухудшению результативности мобилизации (частота получения достаточного для трансплантации числа КПП ПК 52,8% против 58,8% при других режимах, $p=0,387$). Это свидетельствует о том, что данный режим, обладающий высокой противоопухолевой активностью при неходжкинских лимфомах и лимфоме Ходжкина, может быть использован при необходимости

Таблица 8. Восстановление уровня тромбоцитов $>20 \times 10^9/\text{л}$

Число трансплантированных $\text{CD}34^+$ ($\times 10^6/\text{кг}$) клеток	Число больных	Медиана времени до восстановления, дни	Уровень не восстановлен (%)
<1	5	16	0
1—1,99	34	11	3 (8,8)
2—5	55	11	1 (1,8)
>5	36	11	2 (5,6)

без значительного риска потери эффективности мобилизации.

Такие факторы, как значительное отклонение массы тела от нормы, общее число курсов ХТ, полученных пациентом до проведения мобилизации и непосредственно перед сбором, количество линий ХТ, применявшихся в процессе лечения, и др., не показали статистически значимого влияния на результативность мобилизации и сбора КПГ ПК.

Нами выявлено, что уровень лейкоцитов крови не позволяет адекватно прогнозировать оптимальное время для начала сбора КПГ ПК. Это согласуется с данными большинства исследований и свидетельствует о том, что данный показатель не должен использоваться в качестве основного ориентира, так как не совпадает с пиком мобилизационного эффекта у многих пациентов.

Также установлено, что лишь уровень CD34+ клеток в ПК позволяет с достаточной степенью надежности прогнозировать результативность сбора. При содержании >50 CD34+ клеток в 1 мкл ПК можно рассчитывать на получение достаточного для трансплантации числа КПГ ПК более чем у 90% больных. При содержании от 10 до 50 CD34+ клеток в 1 мкл шанс на получение $>2 \times 10^6$ /кг CD34+ имеют от 50 до 61,3% больных. При более низком содержании CD34+ клеток шанс на успешный сбор КПГ ПК существует лишь у 20—25% больных.

Следовательно, для выбора времени начала сбора необходимо ориентироваться на абсолютное содержание CD34+ клеток в ПК. У пациентов с содержанием >10 клеток в 1 мкл ПК шанс на суммарное получение достаточного для трансплантации количества гемопоэтического материала составляет 60—100%. Несмотря на то, что это достоверно выше ($p < 0,001$), чем при более низком содержании CD34+ в ПК, однако и меньшее абсолютное содержание CD34+ клеток не исключает возможности результативного сбора. В связи с этим проведение сбора возможно и у пациентов, у которых при нескольких последовательных определениях уровень CD34+ клеток в ПК не достигает 10, но остается на определяемом уровне (3—9 клеток в 1 мкл).

Большое значение имеет не только сама возможность получения достаточного для трансплантации числа КПГ ПК, но и время, за которое оно может быть получено, так как каждый дополнительный день мобилизации и сбора требует значительных ресурсов (КСФ, магистраль для сепараторов клеток крови, реактивы для определения CD34+ клеток в гемопоэтическом материале и пр.). Кроме того, каждая процедура должна быть осуществлена при четком взаимодействии ряда подразделений: служба крови, банк КМ, лабораторные службы, что требует тщательного планирования. Нами выявлено, что абсолютный уровень CD34+ клеток в крови позволяет предсказывать не только суммарную результативность сбора, но и прогнозировать возможность получения достаточного для трансплантации числа КПГ ПК за 1 процедуру сепарации. При содержании >50 CD34+ клеток в 1 мкл ПК на получение всего требуемого для трансплантации количества гемопоэтического материала за 1 процедуру сбора можно рассчитывать более чем у половины (55,2%) больных. При содержании от 10 до 50 клеток в 1 мкл повторные процедуры сбора, а также продолжение введения КСФ необходимы были 75—77% больным. При меньшем содержании CD34+

клеток в ПК повторные процедуры сбора и продолжение введения КСФ должны быть запланированы для всех пациентов.

В нашем исследовании достаточное, по современным представлениям, число КПГ ПК ($\geq 2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток) было получено у 56,4% больных. Несмотря на то что эта цифра несколько ниже, чем результативность мобилизации и сбора, описываемая в ряде зарубежных источников, возможным объяснением является различие оцениваемых групп больных. В связи с этим многие из пациентов, включенных в наше исследование, в последующем получали трансплантацию субоптимальных по современным понятиям доз КПГ ПК ($< 2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток), однако имели приемлемую скорость восстановления гемопоэза после трансплантации.

Заключение

Таким образом, нам не удалось выявить группу больных, у которых отсутствует шанс на получение достаточного для трансплантации числа КПГ ПК, т.е. при наличии медицинских показаний к проведению ВХТ попытка осуществления мобилизации должна проводиться всем пациентам вне зависимости от наличия или отсутствия факторов, уменьшающих результативность сбора. На наилучшие результаты можно рассчитывать у пациентов, страдающих множественной миеломой, солидными опухолями, а также при применении высоких доз циклофосфида в качестве мобилизационного режима ХТ.

Если перед проведением мобилизации пациенту требуется цитостатическое лечение (с целью дополнительной циторедукции), следует использовать мобилизацию комбинацией ХТ и Г-КСФ. В подобных случаях режим ХТ зависит от типа опухоли, т.е. в первую очередь служит именно для достижения противоопухолевого эффекта, а его мобилизирующая способность является желательной, но не обязательной. Один из эффективных режимов 2-й линии лечения лимфом — Dеха-ВЕАМ не приводит к значимому снижению эффективности мобилизации и сбора КПГ ПК. Комбинированная мобилизация (ХТ + КСФ) проводится также при необходимости увеличения эффективности сбора (по сравнению только с КСФ). Однако в таком случае применяется режим ХТ, показавший наибольшую мобилизирующую эффективность (высокие дозы циклофосфида). Остальным пациентам (находящимся в состоянии ремиссии и не требующим проведения дополнительной ХТ для контроля опухоли перед мобилизацией, больным с прогнозируемым хорошим сбором КПГ ПК) может проводиться мобилизация с использованием только КСФ.

В случае мобилизации с применением только КСФ сбор КПГ ПК проводится в фиксированные сроки после ее начала, при использовании комбинированной мобилизации (ХТ + КСФ) для определения оптимального времени начала сбора применяется мониторинг содержания уровня CD34+ клеток в ПК. Оптимальным считается начало сбора при содержании CD34+ клеток >10 в 1 мкл, однако получение достаточного числа КПГ ПК возможно и при меньшем их содержании.

Получение $>2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток на каждую планируемую трансплантацию считается достаточным, для того чтобы гарантировать быстрое восстановление гемопоэза у большинства больных. При полу-

чении $< 2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток вопрос о возможности проведения трансплантации должен решаться индивидуально с учетом течения основного заболевания, поскольку даже и такая доза трансплантированных КПП ПК (с КМ или без) способна восстанавливать ге-

мопоэз у большинства пациентов. В случае невозможности получения достаточного для трансплантации числа КПП ПК возможно успешное проведение повторного сбора с использованием альтернативного режима мобилизации или при увеличении дозы КСФ.

Л и т е р а т у р а

1. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. Руководство для врачей. М.: МИА, 2003. с. 52—3.
2. Wouter H., Dercksen M., Gerritsen W.R. et al. Expression of adhesion molecules on CD34+ cells, CD34+ L-selectin+ cells predict a rapid platelet recovery after peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 1995;85:3313—8.
3. Gazitt Y., Reading C.C., Hoffman R. Purified CD34+ Lin- Thy+ stem cells do not contain clonal myeloma cells. *Blood* 1995;86:381—6.
4. Chao N.J., Schriber J.R., Grimes K. et al. Granulocyte colony-stimulating factor «mobilized» peripheral blood progenitor cells accelerate granulocyte and platelet recovery after high dose chemotherapy. *Blood* 1993;81:2031.
5. Korbling M., Fliedner T.M., Holle R. et al. Autologous blood stem cell (ABSCT) versus purged bone marrow transplantation (PABMT) in standard risk AML: influence of source and cell composition of the autograft on hematopoietic reconstitution and disease-free survival. *Bone Marrow Transplant* 1991;7(5):343—9.
6. Sheridan W.P., Begley C.G., Juttner C.A. et al. Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilized by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet* 1992;339(8794):640—4.
7. Langenmayer I., Weaver C., Buckner C.D. et al. Engraftment of patients with lymphoid malignancies transplanted with autologous bone marrow, peripheral blood stem cells or both. *Bone Marrow Transplant* 1995;15(2):241—6.
8. Schmitz N., Linch D.C., Dreger P. et al. A randomised phase III study of filgrastim-mobilised peripheral progenitor cell transplantation (PBPC) in comparison with autologous bone marrow transplantation (ABMT) in patients with Hodgkin's disease (HD) and non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Blood* 1994;84(10 Suppl 1):204.
9. Bolwell B.J., Pohlman B., Andresen S. et al. Delayed G-CSF after autologous progenitor cell transplantation: A prospective randomized trial. *Bone Marrow Transplant* 1998;21(4):369—73.
10. Canellos G.P. Is there an effective salvage therapy for advanced Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 1991;2(Suppl 1):1—7.
11. Siena S., Dregni M., Brando B. et al. Circulation of CD34+ haemopoietic stem cells in the peripheral blood of high-dose cyclophosphamide-treated patients: enhancement by intravenous recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1989;74(6):1905—14.
12. Tokuda Y., Okumura A., Kuge S. et al. Multiparameter analysis of the yield of peripheral blood stem cells (PBSC) mobilized by disease-oriented high-dose chemotherapy and G-CSF for breast cancer patients. *Proc ASCO* 1995;14:320—5.
13. Weaver C.H., Hazelton B., Birch R. et al. An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy. *Blood* 1995;86(10):3961—9.
14. Tricot G., Jagannath S., Vesole D. et al. Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. *Blood* 1995;85(2):588—96.
15. Ketterer N., Salles G., Raba M. et al. High CD34(+) cell counts decrease hematologic toxicity of autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Blood* 1998;91(9):3148—55.
16. Richman C.M., Wiener R.S., Yankee R.A. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood* 1978;4:595—6.
17. Kotasek D., Shepherd K.M., Sage R.E. et al. Factors affecting blood stem cell collections following high-dose cyclophosphamide mobilization in lymphoma, myeloma and solid tumours. *Bone Marrow Transplant* 1992;9:11—7.
18. To L.B., Shepperd K.M., Haylock D.N. Single high doses cyclophosphamid enable the collection of high numbers of hemopoietic stem cells from the peripheral blood. *Exp Hematol* 1990;18: 442—7.
19. Lie A.K., Rawling T.P., Bayly J.L. et al. Progenitor cell yield in sequential blood stem cell mobilization in the same patients: insights into chemotherapy dose escalation and combination of haemopoietic growth factor and chemotherapy. *Br J Haematol* 1996;95:39—44.
20. Rowlings P.A., Bayly J.L., Rawling C.M. et al. A comparison of peripheral blood stem cell mobilisation after chemotherapy with cyclophosphamide as a single agent in doses of 4 g/m² or 7 g/m² in patients with advanced cancer. *Aust N Z J Med* 1992;22:660—4.
21. Jagannath S., Vesole D.H., Glenn L. et al. Low risk intensive therapy for multiple myeloma with combined autologous bone marrow and blood stem cell support. *Blood* 1992;80:1666—72.
22. Socinski M.A., Ellias A., Schnnipper L. et al. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating haemopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988;1(8596):1194—8.
23. Dursen U., Villeval J.-L., Kannourakis G. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988;72: 2074—81.
24. Kisinger A., Bierman P., Bishop M. Effects of GM-CSF used for mobilization and after peripheral stem cell transplant (PSCT) for patients with previously treated low grade non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 1993;82(Suppl 1):613.
25. Levesque J.P. et al. Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by G-CSF or cyclophosphamide. *J Clin Invest* 2003;111:187—96.
26. Stahel R.A., Muller E., Pichert G. et al. Dose intensification with autologous marrow support in high-risk lymphoma. Acceleration of hematopoietic recovery and reduction of days of hospitalization with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in a randomized open-label trial. *Proc. ASCO* 1992;11:331—3.
27. Lane T.A., Law P., Maruyama M. Harvesting and enrichment of hematopoietic progenitor cells mobilized into the peripheral blood of normal donors by GM-CSF or G-CSF, potential role in allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1995;85:275—82.
28. Demirkazik A., Armitage J.O., Bierman P.J. et al. Factors affecting progenitor cell and tumor cell content of blood stem cell harvests of lymphoma patients. Program and abstracts of the 40th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.
29. Franklin W., Gaspy J., Pflaumeret S. et al. Incidence of tumor-cell contamination in leukapheresis products of breast cancer patients mobilized with stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) or with G-CSF alone. *Blood* 1999;94(1):340—7.
30. Schwartzberg L.S., Birch R., Hazelton B. et al. Peripheral blood stem cell mobilization by chemotherapy with and without recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *J Hematother* 1992;1:317—27.
31. Brugger W., Bross K., Frisch J.

Mobilization of PBPC by sequential administration of interleukin 3 and granulocyte macrophage colony stimulating factor following polychemotherapy with etoposide, ifosfamide, and cisplatin. *Blood* 1992;79(5):1193—2000.

32. Gianni A.M., Bregni M., Siena S. et al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor reduces hematologic toxicity and widens clinical applicability of high-dose cyclophosphamide treatment in breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1990;8:768—78.

33. Schwartzberg L.S. Peripheral blood stem cell mobilization in the out-patient setting. In: *Peripheral blood stem cell autografts*. E.W. Wunder, P.R. Henon, eds. Heidelberg: Springer-Verlag, 1993. p. 177—84.

34. Elias A.D., Ayash L., Anderson R.C. et al. Mobilization of peripheral blood progenitor cells by chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for hematologic support after high-dose intensification for breast cancer. *Blood* 1992;79:3036—44.

35. Андреева Л.Ю., Тупицын Н.Н., Кадагидзе В.В. и др. Стволовые гемопоэтические клетки в крови онкологических больных, экспрессия CD34 и колониобразование. *Пробл гематол трансфузиол* 1999;(4):4—11.

36. Птушкин В.В., Селидовкин Г.Д. Методические аспекты получения гемопоэтического трансплантационного материала из костного мозга и периферической крови. *Трансплантол искусств орган* 1995;(4):34—40.

37. Птушкин В.В., Селидовкин Г.Д., Чимишкян К.Л. и др. Применение аутологических клеток предшественников гемопоэза из периферической крови для трансплантации у больных с гематологическими и солидными новообразованиями после ВХТ. *Гематол трансфузиол* 1996;41(1):9—13.

38. Van Z.G., Liang Y. The role of stem cells in aging. *Exp Hematol* 2003;31: 659—72.

39. Geiger H., Van Z.G. The aging of lympho-hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 2002;3:329—33.

40. Xing Z., Ryan M.A., Daria D. et al. Increased hematopoietic stem cell mobilization in aged mice. *Blood* 2006;108:2190—7.

41. Boiret N., Bons J.-M., Halle P. et al. G-CSF mobilized PB CD34+ cells from children and adults contain LTC-IC with the same frequency and producing the same numbers of CFC. Program and abstracts of the 41st American Society of Hematology Annual Meeting. *Blood* 1999;94:327.

42. Jantunen E., Kuittinen T., Penttilä K. et al. High-dose melphalan (200 mg/m²)

supported by autologous stem cell transplantation is safe and effective in elderly (≥ 65 years) myeloma patients: comparison with younger patients treated on the same protocol. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:917—22.

43. Kopf B., De Giorgi U., Vertogen B. et al. A randomized study comparing filgrastim versus lenograstim versus molgramostim plus chemotherapy for peripheral blood progenitor cell mobilization. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:407—12.

44. Nowrousian M.R., Waschke S., Bojko P. et al. Impact of chemotherapy regimen and hematopoietic growth factor on mobilization and collection of peripheral blood stem cells in cancer patients. *Ann Oncol* 2003;14(Suppl 1):29—36.

45. Peters W.P., Rosner G., Ross M. et al. Comparative effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on priming peripheral blood progenitor cells for use with autologous bone marrow after high-dose chemotherapy. *Blood* 1993;81:1709—19.

46. Koc O.N., Gerson S.L., Cooper B.W. et al. Randomized cross-over trial of progenitor-cell mobilization: high-dose cyclophosphamide plus granulocyte-colony-stimulating factor (G-CSF) versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus G-CSF. *J Clin Oncol* 2000;18:1824—30.

47. Weaver C.H., Schulman K.A., Buckner C.D. Mobilization of peripheral blood stem cells following myelosuppressive chemotherapy: a randomized comparison of filgrastim, sargramostim, or sequential sargramostim and filgrastim. *Bone Marrow Transplant* 2001;27(Suppl 2):23—9.

48. Roy V., Mandanas R.A., Carter T.H. et al. Randomized comparison of two G-CSF schedules for peripheral blood progenitor cell mobilization in high-risk breast cancer patients. Program and abstracts of the 41st American Society of Hematology Annual Meeting. *Blood* 1999;94:326.

49. Wingard J.R. Stem cells mobilization: Medley of option, even second chances. Program and abstracts of the 41st American Society of Hematology Annual Meeting. *Blood* 1999;94:327.

50. Watts M.J., Sullivan A.M., Jamieson E. et al. Progenitor-cell mobilization after low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor: an analysis of progenitor-cell quantity and quality and factors predicting for these parameters in 101 pretreated patients with malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 1997;15:535—46.

51. Ashihara E., Shimazaki C., Okano A. et al. Feasibility and efficacy of highdose etoposide followed by low-dose G-CSF as a mobilization regimen in patients with non-Hodgkin's lymphoma.

Haematologica 2000;85:1112—4.

52. Pucci G., Irrera G., Martino M. et al. High-dose etoposide enables the collection of peripheral blood stem cells in patients who failed cyclophosphamide-induced mobilization. *Br J Haematol* 1998;100:612—3.

53. Kanfer E.J., McGuigan D., Samson D. et al. High-dose etoposide with granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of peripheral blood progenitor cells: efficacy and toxicity at three dose levels. *Br J Cancer* 1998;78:928—32.

54. Reiser M., Josting A., Draube A. et al. Successful peripheral blood stem cell mobilization with etoposide (VP-16) in patients with relapsed or resistant lymphoma who failed cyclophosphamide mobilization. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:1223—8.

55. Vogel W., Kunert C., Blumenstengel K. et al. Correlation between granulocyte/macrophage-colony-forming units and CD34+ cells in apheresis products from patients treated with different chemotherapy regimens and granulocyte-colony-stimulating factor to mobilize peripheral blood progenitor cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998;124:341—5.

56. Brugger W., Birken R., Bertz H. et al. Peripheral blood progenitor cells mobilized by chemotherapy plus granulocyte-colony stimulating factor accelerate both neutrophil and platelet recovery after high-dose VP16, ifosfamide and cisplatin. *Br J Haematol* 1993;84:402—7.

57. Copelan E.A., Ceselski S.K., Ezzone S.A. et al. Mobilization of peripheral blood progenitor cells with high-dose etoposide and granulocyte colony-stimulating factor in patients with breast cancer, non-Hodgkin's lymphoma, and Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1997;15:759—65.

58. Dreger P., Kloss M., Petersen B. et al. 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. *Blood* 1995;86(10):3970—8.

59. Скрыгин А.Е. Оптимизация технологии мобилизации и коллекции стволовых клеток периферической крови для аутотрансплантации. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. 2006.

60. O'Donnell P., Loper K., Flinn I. et al. Effect of fludarabine chemotherapy on peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT). Program and abstracts of the 40th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL., 1998.

61. Chabannon C., Le Coroller A.-G., Faucher C. et al. Patient condition affects the collection of peripheral blood progenitors after priming with recombinant granulocyte colony-stimulating factor. *J Hematother* 1995;4:171—9.