

АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОТ РОДСТВЕННЫХ ЧАСТИЧНО СОВМЕСТИМЫХ ДОНОРОВ НА ФОНЕ РЕЖИМОВ КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ СО СНИЖЕННОЙ ИНТЕНСИВНОСТЬЮ В ОНКОЛОГИИ

И.С. Долгополов¹, Р.С. Равшанова¹, Р.М. Проценко¹, В.К. Бояришинов¹, Л.Ю. Андреева², Г.Л. Менткевич¹

¹Отделение реанимации и интенсивной химиотерапии и трансплантации костного мозга, НИИ Детской онкологии и гематологии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

²Лаборатория радиоиммунологии, НИИ Клинической онкологии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

РЕЗЮМЕ

С 1998 по 2003 гг. проведено 14 родственных частично совместимых трансплантаций у 13 больных из групп высокого и крайне высокого риска (7 девочек, 6 мальчиков) на фоне режима кондиционирования со сниженной интенсивностью на основе флюдарабина и АТГ. Средний возраст — 12 (3 — 18) лет. У 10 больных диагностированы лейкоз/лимфома и у 3 больных — солидные опухоли (саркома Юинга у 2 и нейробластома у одного). Несовместимость по одному HLA антигену отмечена в 5, по двум антигенам - в 3 и по трем антигенам - в 6 случаях аллогенных трансплантаций. Среднее количество трансплантированных CD34+ клеток составило $5,7 (3,0-27,1) \times 10^6/\text{кг}$. Непосредственно перед переливанием трансплантата проводилась 30 минутная инкубация трансплантата с винкристином и метилпреднизолоном. Профилактика оРТПХ проводилась циклоспорином А и метотрексатом.

Из 13 больных в настоящее время живы 2 без признаков основного заболевания в сроки 3 и 16 мес. 7 больных погибли в ранний посттрансплантационный период в среднем на 22-й (8 — 38) день. Причинами смерти были: острая РТПХ у 4 больных, инфекция у 3 больных. Двое больных погибли от прогрессирования основного заболевания на дни 67-й и 93-й. Острая РТПХ III-IV стадии наблюдалась у 5 больных. Хроническая диссеминированная РТПХ развилась у 2 больных. Один больной погиб от острой надпочечниковой недостаточности и ДВС синдрома, развившихся на фоне хронической распространенной РТПХ — 36 месяцев спустя после трансплантации. Один больной погиб на день 400 от хронической РТПХ с рестриктивно-обструктивным поражением легких. У обоих наблюдалась полная ремиссия на момент смерти. У 9 из 10 больных, восстановивших гемопоэз, наблюдался полный донорский химеризм. У 1 больного с диссеминированной саркомой Юинга полная ремиссия достигнута через 3,5 мес после трансплантации.

ABSTRACT

From 1998 to 2003 14 transplantations from mismatched relatives have been performed in 13 pediatric poor-prognosis patients following reduced intensity fludarabine/ ATG-based conditioning regimens. The median age was 12 (3-18) years. High-risk hematological malignancies were diagnosed in 10 patients, solid tumors (Ewing's sarcoma in 2, neuroblastoma in 1) in 3 patients. Five pts received 1 antigen, 3 pts 2 antigen and 6 pts 3 antigen disparate grafts. The PBSC with a median number of $5,7 (3,0-27,1) \times 10^6$ CD34+ cell/kg were reinfused after 30 min. Incubation in vitro with vincristin and methylprednisolone to obtain a functional T-cell depletion. Cyclosporin A and short methotrexate was used as a GvHD prophylaxis.

At the present time 2 pts are alive without disease for 3 and 16 mo, respectively (one with metastatic relapse of Ewing's sarcoma, one with relapsed AML). Seven pts died in early posttransplant period (4 from acute GvHD, 3 from infections). Two pts died of disease progression on d+ 67 and 93. Grade III-IV aGvHD occurred in 5 pts. Two pts experienced a chronic disseminated GvHD, which lead to the death in one pt on d+400. One pt died of an acute suprarenal insufficiency

36 months after transplant. Both were in CR. Ten patients recovered hematopoiesis. Nine of them experienced full donor chimerism. In one pt with Ewing's sarcoma relapsing in lungs a CR was observed 3,5 months after transplant.

Ключевые слова: родственный частично совместимый донор, немиелоаблативный режим кондиционирования, химеризм, острая и хроническая РТПХ.

Key words: mismatched related donor, reduced-intensity conditioning, chimerism, acute and chronic GvHD.

ВВЕДЕНИЕ

Проведение аллогенной трансплантации больным острыми и хроническими лейкозами и некоторыми типами лимфом из групп высокого риска позволяет существенно снизить риск рецидива заболевания и повысить шансы пациентов на выздоровление. В последние годы в связи с разработкой новых режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью аллогенная трансплантация начинает активно использоваться и для лечения больных с солидными опухолями, резистентными ко всем другим методам терапии.

Одним из основных препятствий является отсутствие HLA-совместимого родственного или неродственного донора гемопоэтических стволовых клеток. Проблема подбора HLA-идентичных доноров особенно актуальна для России, где в силу отсутствия реально действующего обширного донорского регистра и малочисленностью семей уменьшается вероятность наличия необходимого донора среди ближайших родственников. В подобных случаях методом выбора может являться частично совместимая родственная трансплантация. Не решенными остаются проблемы, связанные с подготовкой трансплантата, режимами профилактики реакции «трансплантат против хозяина», выбором режима кон-

диционирования. Ниже приведен опыт первых в России трансплантаций от родственных частично совместимых доноров на фоне режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 1998 по 2003 гг. проведено 14 родственных частично совместимых трансплантаций 13 пациентам (7 девочек, 6 мальчиков), средний возраст 12 (3 — 18) лет, со следующими нозологиями: острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) во 2-й и последующих ремиссиях на фоне прогрессии или вторичный 4 больных, лимфома (прогрессирование болезни и диссеминированные формы) у 3 больных, хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) у 2 больных, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ) у 1 больной (проведены 2 последовательные трансплантации; в связи с неприживлением донорского костного мозга после первой от матери вторая трансплантация проведена от отца), диссеминированная саркома Юинга у 2 больных и резистентная нейробластома IV стадии у 1 больной. Подробно сведения о больных представлены в табл. 1. При проведении 14 частично совместимых трансплантаций в паре донор/реципи-

Таблица 1

Характеристика больных, получивших трансплантацию от родственных частично совместимых доноров.

Рубрика	Данные	Статус
Количество больных/трансплантаций	13/14	
Пол	♀ 7, ♂ 6	
Возраст (лет)	12 (3—18)	
Курсов химиотерапии до трансплантации	5 (0—10)	
Диагноз		
ОМЛ	4	2-я ПР-1, 4-я ПР—1, прогрессия—1, вторичный—1
ХМЛ	2	Хроническая фаза—1, акселерация—1
ЮММЛ*	1	
Лимфома	3	Прогрессия—3
Саркома Юинга	2	Метастатический рецидив—1 Прогрессия—1
Нейробластома IV стадии	1	Прогрессия—1
* Больной трансплантирован дважды; ПР — полная ремиссия.		

ент несовместимость по одному HLA-антигену отмечена в 5 случаях, по двум антигенам в 3 случаях и по 3 антигенам в 6 случаях. Несовместимость по полу наблюдалась в 9 парах донор/реципиент. Несовместимость пары донор/реципиент по группам крови наблюдалась в 7 случаях: в 3 она была малой и в 4 — большой. Несовместимость по резус-фактору и Kell-группе наблюдалась в 6 и 6 случаях соответственно. Средний возраст доноров составил 28 (16 — 41) лет.

Трансплантация проводилась на фоне полной ремиссии в 2 случаях, стабилизации процесса — в 4 случаях, на фоне прогрессирования заболевания — в 8 случаях. У 3 больных на момент трансплантации имелся хронический гепатит В, у одного больного инвазивный диссеминированный аспергиллез легких и придаточных пазух, у одного субкомпенсированная дилатационная кардиомиопатия на фоне превышения максимальной кумулятивной дозы антрациклинов (560 мг/м² по доксорубину и 120 мг/м² по митоксантрону) в процессе предшествующего лечения остеосаркомы и вторичного ОМЛ.

Типирование по HLA-системе проводилось на основании определения антигенов I класса (HLA A и B) серологическими методами, и II класса (HLA DRB1, DQA1 и DQB1) молекулярно-генетическим методом.

Во всех случаях применялись режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью, которые базировались на комбинации флюдарабина и АТГ. Наиболее часто применялся режим, включающий флюдарабин 180 г/м²/курс, АТГ 40 мг/кг и бусульфан 8 мг/кг (n=5, 36%). В 3 случаях (21%) к этой комбинации был добавлен мелфалан в дозе 70 мг/м². Режим, включающий флюдарабин 180 мг/м²/курс, АТГ 40 мг/кг в комбинации с мелфаланом 70 мг/м², применялся в 2 случаях (14%). Комбинация флюдарабина, АТГ, мелфалана и тиофосамида в дозе 300 мг/м² применялась у 2 больных (14%). В одном случае использовался режим, включающий АТГ 40 мг/кг и бусульфан 8 мг/кг, т.к. больной с ОМЛ предварительно получил в качестве индукции ремиссии 2 курса химиотерапии, включающей флюдарабин 150 мг/м², причем последний менее чем за 3 недели до начала режима кондиционирования. В одном случае был применен режим АТГ 40 мг/кг в комбинации с облучением тимуса, и всех групп лимфатических узлов в дозе 2 Гр. В данном случае речь шла о повторной трансплантации от другого родственного частично совместимого донора (отец) больному ЮММЛ, у которого после первой трансплантации ПСК от матери (режим кондиционирования бусульфан 8 мг/кг, мелфалан 70 мг/м², флюдарабин 180 мг/м² и АТГ 40 мг/кг) на 70-е сутки наблюдалось отторжение трансплантата и восстановление аутологичного костного мозга.

Базовая профилактика РТПХ проводилась циклоспорином в дозе 3 мг/кг/день внутривенно со дня «-1». Больные переводились на пероральный прием циклоспорина А, как только у них восстанавливалась способность к приему препаратов и пищи через рот. Концен-

трация циклоспорина А в крови определялась методом спектрофотометрии 2 раза в неделю и поддерживалась на уровне 200-350 нг/мл. Циклоспорин А отменялся со дня+60 у больных, трансплантации которым проведены с 1998 по начало 2001 г. и со дня +100 при отсутствии признаков РТПХ у больных, начиная со второй половины 2001 г. Отмена циклоспорина А происходила постепенно, на 10-15% от начальной дозы каждые 10-14 дней. С 2002 г. к режиму профилактики циклоспорином А был добавлен метотрексат в дозе 10 мг/м² на дни +1 и +3 и 5 мг/м² на день +6.

Непосредственно перед переливанием трансплантата проводилась 30-мин инкубация трансплантата с винкристином из расчета 0,0065 мг/мл и метилпреднизолона из расчета 0,35 мг/мл трансплантата.

Мобилизация и сепарация периферических стволовых клеток

Сепарация ПСК от здорового донора проводилась после назначения донору Г-КСФ в средней дозе 5,3 (3,9 - 12) мкг/кг/день подкожно, 1 раз в день. Сепарация начиналась на 5-й день от начала стимуляции и продолжалась до получения не менее 3,0×10⁶ CD34+/кг. Венозный доступ осуществлялся через периферические вены или центральный 2- просветный катетер (подключичный, реже бедренный).

Оценка химеризма

После стабильного восстановления лейкоцитов более 1,0×10⁹/л проводилась оценка химеризма, т.е. соотношения клеток донора и реципиента на основании анализа периферической крови и/или костного мозга. Для оценки химеризма использовались методы флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и молекулярной диагностики и определение молекул II класса HLA системы в случае несовместимости пары донор/реципиент по этим антигенам.

Сопроводительная терапия

Деконтаминация, профилактика веноокклюзионной болезни, стоматитов и бронхолегочных инфекций осуществлялись по общепринятым схемам. Больным с признаками хронической инфекции, хронической РТПХ и уровнем иммуноглобулина G менее 4,0 гр/л проводились внутривенные трансфузии человеческого иммуноглобулина из расчета 0,4 гр/кг каждые 4 недели.

Оценка токсичности, степени РТПХ и статистическая обработка материалов

Оценка токсичности проводилась согласно шкале, принятой Национальным противораковым институтом США в марте 1998 г. (СТС версия 2, NCI). Оценка степени поражения органов и систем и стадии острой РТПХ оценивалась согласно общепринятым критериям, разработанным Gluckberg и соавт. (1). Оценка хронической РТПХ проводилась согласно критериям разработанным Atkinson et al. [2]. Наруше-

Результаты частично совместимой родственной трансплантации

№	Диагноз	HLA совместимость	Режим кондиционирования	Профилактика РТПХ	Острая/ хр. РТПХ (стадия)	Химеризм	Исход
1	В-лимфома, IV ст., 1-й рецидив	3/6	Ф-АТГ-М	(-)	(-)	(-)	Умер д 17, сепсис
2	СЮ IV ст., прогрессия после ауто ТПСК	3/6	Ф-АТГ-М	(-)	IV	(-)	Умер оРТПХ, д 19
3	НБ IV ст., прогрессия	4/6	Ф-АТГ-Бу	(-)	IV	(-)	Умер оРТПХ, д 8
4	ХМЛ, хр. фаза	5/6	Ф-АТГ-Бу-М	(-)	IV	ПХ	Умер оРТПХ, д 20
5	CD30, В-лимфома IV ст., 2-й рецидив после аутоТПСК	3/6	Ф-АТГ-Бу	ЦСА	II	ПХ	Умер 36 мес. Острая надпочечниковая недостаточность Хр. распространенная РТПХ.
6	ОМЛ М4, резистентный 1-й рецидив	3/6	Ф-АТГ-М-ТТ	ЦСА	(-)	(-)	Умер д 21, сепсис
7	ОМЛ М1, 3-й рецидив	3/6	Ф-АТГ-М-Бу	ЦСА	II	ПХ	Умер д 400, Хр. распространенная РТПХ
8	ЮММЛ, акселерация	5/6 3/6	Ф-АТГ-М-Бу АТГ-ЛТ 2 Гр	ЦСА ЦСА	(-) IV	(-) ПХ	Неприживление трансплантата Умер оРТПХ, д 31
9	Т-лимфома, IV ст., резистентная	4/6	Ф-АТГ-М-ТТ	ЦСА	II	ПХ	Рецидив д 47, умер сепсис д67
10	ОМЛ М5, 1-й рецидив	5/6	АТГ-Бу	ЦСА-МТХ	III	ПХ	Жив, без хр. РТПХ, д 420
11	ХМЛ, акселерация	5/6	Ф-АТГ-Бу	ЦСА-МТХ	II	ПХ	Умер д 38, вирусная инфекция
12	Вторичный ОМЛ М4, остеосаркома. рецидив (легкие)	5/6	Ф-АТГ-Бу	ЦСА-МТХ	I	ПХ	Рецидив ОМЛ д 81, умер д 93
13	СЮ, рецидив (легкие)	4/6	Ф-Бу-АТГ	ЦСА-МТХ	I	ПХ	Жив д 90, полная ремиссия

Примечания.

СЮ — саркома Юинга;

НБ — нейробластома;

ХМЛ — хронический миелоидный лейкоз;

ТПСК — трансплантация ПСК;

ЮММЛ — ювенильный миеломоноцитарный лейкоз;

Ф — флюодарабин;

Бу — бусульфан;

М — мелфалан;

АТГ — АТГ;

ТТ — тиотепа;

ЛТ — лучевая терапия;

ЦСА — циклоспорин А;

МТХ — метотрексат;

ПХ — полный химеризм.

ние в общем соматическом статусе больных оценивалось по шкале Lanski.

Корреляционный анализ проведен с использованием метода кросстабуляции. Выживаемость оценена по методу Kaplan-Meiera. Достоверность параметрических данных сравнивалась по методу Стюдента, непараметрических — по методу χ^2 . Для анализа полученных данных применена программа SPSS8.0 для Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 13 больных в настоящее время без признаков основного заболевания живы 2 (3 и 16 мес, соответственно). 7 больных погибли в раннем посттрансплантационном периоде в среднем на +22-й (8 — 38) день. Причинами смерти были: острая РТПХ у 4 больных, инфекция у 3. 1 больной погиб на 400-й день от хронической РТПХ с рестриктивно-обструктивным поражением легких. 1 больной в полной ремиссии погиб от острой надпочечниковой недостаточности и ДВС синдрома, развившихся на фоне хронической распространенной РТПХ 36 месяцев спустя после трансплантации. Двое больных погибли от прогрессирования основного заболевания в дни +67 и +93, соответственно. Сведения о больных суммированы в табл. 2.

Токсичность режимов кондиционирования

Токсичность, развивавшаяся на фоне проведения режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью, была умеренной. У 3 больных (23%) с введением АТГ наблюдался подъем температуры до 39°C и озноб. В одном случае (8%) наблюдалась пятнисто-папулезная зудящая сыпь. Явления купировались введением глюкокортикоидов. После первого появления реакции, связанной с введением АТГ, все последующие введения проводились под прикрытием глюкокортикоидов и/или нестероидных противовоспалительных препаратов, которые назначались за 1 час до инфузии АТГ. Это позволило снизить выраженность реакции, а в ряде случаев вообще их предотвратить. У одного больного на 2-й день введения бусульфана наблюдалась двукратная рвота. В целом переносимость режимов со сниженной интенсивностью была удовлетворительной, особенно в случае флюдарабин+бусульфан+АТГ. Для анализа токсичности были выделены 2 группы больных.

В первую группу (n=7) включены больные, получившие флюдарабин 140 мг/м²/курс, АТГ 40 мг/кг и бусульфан 8 мг/кг (n=5), и больные, получившие АТГ в комбинации с лучевой терапией на основные группы лимфатических узлов или бусульфаном (n=2), во вторую группу — больные, получившие флюдарабин 140 мг/м²/курс, АТГ 40 мг/кг и мелфалан 70 мг/м² в комбинации с бусульфаном 8 мг/кг или тиофосфамидом 300 мг/м² (n=7). В первой группе отмечено 7 эпизодов токсичности более 2 степени, связанных с режимом кондиционирования. Они включали в себя: мукозит 4 степени в 2

случаях, мукозит 2 степени в 1 случае, и по 1 эпизоду сердечной недостаточности 2 степени (ПА функциональный класс, отвечающий на лечение диуретиками и низкие дозы блокаторов кальциевых каналов), нефротоксичности 2 степени, гастроинтестинальной токсичности 3 степени и геморрагического цистита 4 степени.

Во второй группе наблюдалось 13 эпизодов токсичности более 2 степени. Мукозит 4 степени наблюдался в 5 случаях, гепатотоксичность 4 степени — в 2 случаях (в одном подъем билирубина в 4 раза и в одном подъем билирубина в 2,5 раза и подъем трансаминаз в сыворотке крови в 14 раз), токсичность со стороны ЦНС 4 степени наблюдалась в 1 случае (клонико-тонические судороги в день +4). Токсичность со стороны желудочно-кишечного тракта 3 степени наблюдалась в 2 случаях (рвота 7 — 8 раз в день и стул 6 — 7 раз в день) и 4 степени в 2 случаях (стул 10 — 12 раз в день и геморрагический колит, потребовавшие полного парентерального питания в течение 9 и 11 дней соответственно). И в одном случае у больного отмечено развитие тяжелой веноокклюзионной болезни на фоне режима, включающего в себя флюдарабин, бусульфан, мелфалан и тиофосфамид.

В среднем на одного больного потребовалось 7 (3 — 23) трансфузии эритроцитарной массы, 9 (4 — 48) доз тромбоконцентрата, полученного от одного донора на сепараторе крови, и 5 (0 — 69) доз свежзамороженной плазмы (СЗП) при среднем сроке пребывания в отделении 30 (8 — 400) дней. Стандартизация показателей количества трансфузий была проведена в зависимости от числа дней госпитализации. Средний индекс трансфузий эритроцитарной массы составил 0,03 (0,02 — 0,86) трансфузий в день во всей группе больных, для тромбоцитов 0,21 (0,02 — 1,47) и для СЗП 0,1 (0 — 1,26). При проявлениях токсичности III-IV степени и сепсисе этот показатель был достоверно выше и составил для эритроцитарной массы, тромбоцитов и СЗП 0,31 (0,02 — 0,86) против 0,21 (0,02 — 0,31), 0,67 (0,12 — 1,47) против 0,17 (0,02 — 0,38) и 0,4 (0,09 — 1,26) против 0,01 (0 — 0,1) для группы больных с проявлениями токсичности II степени и менее (p=0,01; 0,005 и 0,003, соответственно).

Инфекционные осложнения

У всех больных на протяжении раннего посттрансплантационного периода отмечалась лихорадка неясного генеза. В 6 случаях отмечались положительные результаты посевов крови и в 2 — мочи. Грам-положительная флора высеяна из крови в 2 случаях (в одном случае метициллин-резистентный стафилококк), Грам (-) флора в 3 случаях и в одном случае высеяны грибы рода Candida. Из мочи высеяна E.coli в обоих случаях (в одном в комбинации с St. aureus, чувствительным только к ванкомицину). У одного больного развилась генерализованная вирусная инфекция с поражением глаз (язвенный кератит), печени (гепатит), кожи (везикулезная сыпь) на 39-й день на фоне 100%-ного приживления донорского костного мозга.

Восстановление гемопоэза и оценка гемопоэтического химеризма.

В среднем в процессе каждой трансплантации было перелито 11,6 (4,7 — 32,4) ядерных клеток $\times 10^8$ /кг, содержащих 5,7 (3,0 — 27,1) $\times 10^6$ CD34+/кг. В 5 из 14 случаев (36%) больные получили менее 5,0 $\times 10^6$ CD34+/кг. Среднее содержание CD3+ клеток в трансплантате составило в среднем 4,8 (1,1 — 39,2) $\times 10^8$ /кг. В 10 из 14 случаев (71%) наблюдалось восстановление лейкоцитов более 1,0 $\times 10^9$ /л за счет донора в среднем на 13-й (8 — 29) день: в 7 из 14 случаев (50%) — восстановление тромбоцитов более 20,0 $\times 10^9$ /л в среднем на 15-й день (0 — 42). В 2 из 7 случаев уровень тромбоцитов не опускался ниже 20,0 $\times 10^9$ /л. У больного ЮХММЛ наблюдалось восстановление аутологичным костным мозгом после первой трансплантации от матери. Двое больных погибли от различных причин, не восстановив кроветворения.

Первичная оценка химеризма была произведена в 9 случаях на первом месяце после аллогенной трансплантации в среднем на 23-й (14 — 28) день, в 1 случае — на 36-й день и в 1 случае — на 75-й день. Получены следующие результаты: в 7 случаях (78%) наблюдался полный 100%-ный химеризм и в 2 случаях (22%) — частичный химеризм, который у обоих больных сменился полным донорским к дням +49 и +80 соответственно. Дальнейшую динамику химеризма (более 60 дней) удалось проследить в 5 случаях. В 4 случаях сохранялся 100%-ный донорский химеризм при повторных исследованиях с максимальным интервалом в 550 дней. В одном случае 100%-ный донорский химеризм сохранялся до 178-го дня, затем на 330-й и 364-й дни наблюдался частичный донорский химеризм (метод HLADRB1 типирования).

Профилактика острой РТПХ и факторы, влияющие на ее развитие.

Первично профилактика РТПХ не проводилась в 4 из 14 случаев (29%), профилактика циклоспорином А проводилась в 6 случаях (42%) и комбинацией циклоспорин А и метотрексат в 4 случаях (29%). Профилактика РТПХ циклоспорином А продолжалась в среднем до дня +61 (32 — 167).

Острая РТПХ II степени наблюдалась в 9 из 14 случаев (64%). В 2 случаях наблюдалась оРТПХ I степени с поражением кожи 2 стадии. В 3 случаях оРТПХ не наблюдалась (у 2 больных не отмечалось восстановления лейкоцитов $> 1,0 \times 10^9$ /л и у 1 больного наблюдалось отторжение трансплантата и восстановление аутологичным костным мозгом).

В группе, где наблюдалась оРТПХ, первые ее признаки появлялись достаточно рано по сравнению с данными литературы, анализирующими результаты трансплантации от родственных и неродственных совместимых доноров. В среднем интервал от аллогенной трансплантации до появления первых симптомов острой РТПХ составил 10 (5 — 45) дней. В группе больных, которым профилактика проводилась с

применением метотрексата и АТГ вводился по схеме через день со дня -5 по день +1, симптомы оРТПХ возникали значительно позднее, в среднем на 17-й (16 — 45) день. В группе больных, которым АТГ вводился по стандартной ежедневной схеме на день с-4 по -1 в комбинации только с циклоспорином А или без него, средний срок возникновения острой РТПХ составил 8 (5 — 12) дней. ($p=0,048$).

Суммируя все данные о поражении органов и нарушений в общем статусе больных в нашем исследовании, в 2 случаях острая РТПХ была оценена как I степени, в 4 случаях как острая РТПХ II степени, в 1 случае больному была поставлена РТПХ III степени и в 4 случаях отмечалось развитие у больных острой РТПХ IV степени.

Эффект «трансплантат против опухоли»

Эффект «трансплантат против опухоли» мог быть оценен у 6 из 13 больных, которые прожили не менее 2 мес после трансплантации или подвергались аутопсии с исследованием первичных и метастатических опухолевых очагов после гибели. 100%-ный донорский химеризм установился во всех случаях, кроме одного. В одном случае наблюдался смешанный химеризм на день +20, который трансформировался в 100%-ный донорский химеризм на день +49.

Двое больных рецидивировали на фоне 100%-ного донорского химеризма (один с вторичным ОМЛ и один — с Т-клеточной диффузной лимфомой). В первом случае больной рецидивировал на день +81 после трансплантации. Второй больной, с поражением левого легкого, плевры, лимфатических узлов средостения рецидивировал на день +47 с появлением неврологической симптоматики в виде сходящегося косоглазия и головных болей. При пункции спинномозговой жидкости подтвержден рецидив Т-клеточной лимфомы, сходный по иммунофенотипу с первичной опухолью. Больному была начата терапия интратекальными введениями метотрексата, цитозара и метилпреднизолона в возрастных дозировках. После второго введения констатирована полная ремиссия. Больной погиб на день +67 от сепсиса. На аутопсии не обнаружено опухолевых клеток ни в одном из существовавших до трансплантации очагов в грудной клетке и лимфатических узлах. Рецидив в ЦНС у больной с Т-лимфомой при отсутствии локальной прогрессии на аутопсии может быть объяснен непроницаемостью гематоэнцефалического барьера для эффекта «трансплантат против опухоли». Трое больных пережили более 100 дней после трансплантации и один больной находится в процессе терапии на день +90. У последнего больного на фоне аллогенной трансплантации и установления полного донорского химеризма наблюдается исчезновение метастазов саркомы Юинга, резистентной ко второй линии терапии. При длительном наблюдении наличие хронической РТПХ было тесно связано с противоопухолевым эффектом транспланта-

та. У 2 из 3 больных, проживших более 1 года от трансплантации без признаков рецидива, отмечалось наличие распространенной формы РТПХ с поражением печени, кожи, слизистых, глаз, желудочно-кишечного тракта, легких. Лишь в одном случае хроническая РТПХ носила локализованный характер и через 10 мес ее проявления полностью исчезли. В настоящее время этот больной с рецидивом ОМЛ жив без признаков заболевания или РТПХ 16 мес.

ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из основных проблем, ограничивающих применение аллогенной трансплантации, является отсутствие совместимых доноров. По данным Международного регистра добровольных доноров, только около 30% больных, имеющих показания к трансплантации, имеют совместимых доноров среди родственников. Поиск в национальном и международном регистрах, включающим около 8 миллионов добровольных доноров, оказывается успешным менее чем для 1/3 больных [3]. Таким образом, около половины больных, нуждающихся в трансплантации, не находят донора и погибают от прогрессирования заболевания. Эту проблему могла бы успешно решить трансплантация от родственных, частично совместимых доноров. Кроме того, проведение данного вида трансплантаций, существенно снизило бы расходы на содержание регистра доноров и их обследование. Однако попытки осуществить подобный вид трансплантаций используя схемы и технологии, применяемые при наличии совместимых доноров, были обречены на неудачу в связи со 100%-ным риском развития острой, в большинстве случаев фатальной, РТПХ. Так из 19 больных, получивших гаплоидентичную трансплантацию на фоне миелоаблативных режимов, у 11 развилась оРТПХ > II степени. 8 больных погибли, несмотря на профилактику циклоспорином А и АТГ, в раннем посттрансплантационном периоде [4].

Экспериментальные работы показали существование простых, недорогих и эффективных методов функциональной Т-клеточной деплеции, не снижающих абсолютное количество Т-клеток в трансплантате, но уменьшающих риск развития оРТПХ и реакции отторжения [5; 6]. Так, инкубация трансплантата с циклоспорином А и метилпреднизолоном в течение 1 часа приводила к функциональной инактивации клеток, потенцирующих РТПХ, при сохранении гемопоэтического потенциала костного мозга, отмечалось существенное снижение продукции лейкоцитами IL-1 и IL-2 [7]. Родственная частично-несовместимая по 2 или 3 антигенам трансплантация может быть успешной при условии предварительной обработки трансплантата винкристином и метилпреднизолоном и проведении стандартной профилактики циклоспорином А. У 60 больных, полу-

чивших такую трансплантацию, оРТПХ > II степени наблюдалась в 15%, а хрРТПХ в 28% случаев [8].

В наше исследование вошли только больные с абсолютно неблагоприятным прогнозом по основному заболеванию, которые не могли быть излечены другими, существующими на настоящий момент стандартными терапевтическими программами. При анализе обращает на себя внимание прежде всего сама возможность проведения родственной частично совместимой трансплантации гемопоэтических стволовых клеток без Т-клеточной деплеции на фоне применения режимов со сниженной интенсивностью. В 10 из 14 случаев больные восстановили гемопоэз (лейкоциты более $1,0 \times 10^9/\text{л}$), причем в 9 из 10 случаев 100%-ный донорский химеризм устанавливался в первые 100 дней после трансплантации и оставался стабильным длительное время. Также следует отметить очень низкий процент неприживления трансплантата в этой группе больных. Это может быть объяснено двумя факторами: во-первых, применением АТГ и флюдарабина в подготовительных режимах; во-вторых, интенсивной предшествующей терапией у большинства больных, которая истощает функциональные резервы костного мозга к моменту трансплантации. Положительное значение АТГ и флюдарабина показано целым рядом исследователей при проведении трансплантаций как от совместимых, так и от альтернативных доноров [9; 10].

В литературе активно дискутируется влияние «мегадоз» СД34+ клеток на скорость и стабильность восстановления донорского гемопоэза при родственной частично совместимых трансплантациях, особенно после глубокой Т-клеточной деплеции [10 — 12]. В нашем исследовании среднее число трансплантируемых СД34+ клеток составило всего $5,7 (3,0 — 27,1) \times 10^6/\text{кг}$. Не являясь «мегадозой», данное количество стволовых клеток обеспечило восстановление лейкоцитов на 13-й (8 — 29) день и тромбоцитов более $20 \times 10^9/\text{л}$ на 15-й (0 — 42) день. При этом не было достоверной разницы в восстановлении показателей больных, получивших более $5,0 \times 10^9$ СД34+ /кг и менее. По нашему мнению, наличие большого числа СД3+ клеток в трансплантате могло способствовать не только реализации противоопухолевого эффекта, но и раннему становлению донорского гемопоэза.

Основной проблемой, наряду с инфекциями, была оРТПХ, от которой 4 больных погибли. Наличие четкой зависимости тяжести оРТПХ от интенсивности ее профилактики диктует необходимость применения в посттрансплантационном периоде метотрексата, циклоспорина, а также включения АТГ в режимы кондиционирования. В рандомизированных исследованиях показано, что профилактика с использованием метотрексата более эффективна, чем использование одного циклоспорина А или даже Т-клеточной деплеции у больных ХМЛ и острыми лейкозами [14; 15].

Проводя больным с химиорезистентными опухолями аллогенную частично совместимую трансплан-

тацию, мы рассчитывали, прежде всего, на иммунологический эффект «трансплантат против опухоли». Режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью были выбраны из расчета снизить посттрансплантационную токсичность и летальность, обеспечить приживание трансплантата и создать базу для реализации противоопухолевого эффекта. Ранняя отмена иммуносупрессии в этом контексте казалась логичной и предпринималась с целью не допустить длительного подавления противоопухолевых клонов и активизировать реакцию «трансплантат против опухоли». Первичная цель была нами достигнута: первые двое больных прожили более 1 года от момента трансплантации без признаков заболевания. Однако оба эти больных страдали от хронической распространенной РТПХ, сформировавшейся рано и резистентной к терапии. Качество жизни этих больных было неудовлетворительным, они требовали постоянного пребывания в стационаре и мощной антибактериальной и симптоматической терапии. Усиление профилактики острой РТПХ добавлением метотрексата и медленная отмена циклоспорина А в нашем исследовании не привело к уменьшению противоопухолевого эффекта, но снизило тяжесть острой и хронической РТПХ. Теоретическими посылками для этого служат работы, где показано, что в случае частично совместимых трансплантаций происходит распознавание варианта HЛАС детерминант НК клетками донора (KYR2 рецепторы), которые восстанавливаются в первые 2 мес после трансплантации независимо от тимуса и оказывают прямой цитотоксический эффект на опухоль [16; 17]. У 3 из 4 больных, получивших профилактику РТПХ метотрексатом, циклоспорином и АТГ в режиме кондиционирования, был получен противоопухолевый эффект, причем он реализовывался в первый месяц после трансплантации. В одном случае эффект у больного со вторичным ОМЛ, трансплантированном на фоне прогрессии заболевания, был кратковременным (день+81), однако это был самый длительный период цитологической ремиссии и единственный период молекулярно-генетической ремиссии за все время терапии. Другой больной с рецидивом ОМЛ жив без признаков хронической РТПХ и сохраняет 100%-ный донорский химеризм более 16 мес. У третьего больного с метастатическим рецидивом саркомы Юинга, резистентным ко второй линии терапии, отмечается регрессия метастазов в легких, начиная с первого месяца после трансплантации. Через 90 дней после трансплантации больной получал иммуносупрессивную терапию, у него отсутствовали признаки РТПХ, сохранялся 100%-ный донорский химеризм и полная ремиссия по основному заболеванию. Мы не отрицаем возможного противоопухолевого эффекта подготовительного режима, однако он кажется маловероятным. На наш взгляд, у больных с опухолями, резистентными ко второй и последующим линиям хими-

отерапии, не может быть получено относительно длительной полной ремиссии с использованием комбинации флюдарабина 180 мг/м², АТГ 40 мг/кг и бусульфана 8 мг/кг.

Трансплантация от родственных, частично совместимых доноров на фоне режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью является перспективным направлением в лечении опухолей, резистентных к химиотерапии, позволяющим не только восстановить гемопоэз и добиться 100%-ного донорского химеризма, но и реализовать эффект «трансплантат против опухоли», обеспечив тем самым длительную ремиссию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Forman S.J., Blume K.G., Thomas E.D. eds. Bone Marrow Transplantation, Blackwell Scientific Publications, Cambridge, MA, стр. 343, Таблицы 26-1 и 26-2.
2. Atkinson K., Horowitz M.M., Gale R.P. et al. Consensus among bone marrow transplanters for diagnosis, grading and treatment of chronic graft-versus-host disease. Bone Marrow Transplant 1989;4:247-54.
3. Aversa F., Tabilio A., Velardi A., Cunningham I., Terenzi A., Falzetti F., Ruggeri L., Barbabietola G., Aristei C., Latini P., Reisner Y., Martelli M.F. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. N Engl J Med 1998 Oct 22;339(17):1186-93.
4. Polchi P., Lucarelli G., Galimberti M., Giardini C., Baronciani D., Angelucci E., Sparaventi G., Capponi D., Talevi N., Debiagi M. et al. Haploidentical bone marrow transplantation from mother to child with advanced leukemia. Bone Marrow Transplant 1995 Oct;16(4):529-35.
5. Sykes M., Chester C.H., Sundt T.M., Romick M.L., Hoyles K.A., Sachs D.H. Effects of T cell depletion in radiation bone marrow chimeras. III. Characterization of allogeneic bone marrow cell populations that increase allogeneic chimerism independently of graft-vs-host disease in mixed marrow recipients. J Immunol 1989 Dec 1;143(11):3503-11.
6. Fowler D.H., Kurasawa K., Smith R., Eckhaus M.A., Gress R.E. Donor CD4-enriched cells of Th2 cytokine phenotype regulate graft-versus-host disease without impairing allogeneic engraftment in sublethally irradiated mice. Blood 1994 Nov 15;84(10):3540-9.
7. Grcevic D., Batinic D., Ascensao J.L. and Marusic M. Pre-treatment of transplant bone marrow cells with hydrocortisone and cyclosporin A alleviates graft-versus-host reaction in a murine allogeneic host-donor combination. Bone Marrow Transplantation, (1999) 23, 1145-1152.
8. Andolina M., Maximova N., Rabysin M., Vujic D., Bynjevacki G., Vidali C., Beorchia A. Haploidentical bone marrow transplantation in leukemia and genetic diseases. Haematologica 2000 Nov;85(11 Suppl):37-40.
9. Klingebiel T.E., Lang P., Schumm M. et al. Current results in haploidentical stem cell transplantation in children. Bone Marrow Transplant 2000; 25 (Suppl. 1):S1.
10. Ortin M., Raj R., Kinning E., Williams M., Darbyshire P.J. Partially matched related donor peripheral blood progenitor cell transplantation in paediatric patients adding fludarabine and anti-lymphocyte gamma-globulin. Bone Marrow Transplant 2002 Sep;30(6):359-66.
11. Reisner Y., Martelli M.F. Transplantation tolerance induced by «mega dose» CD34+ cell transplants. Exp Hematol 2000 Feb;28(2):119-27.

12. Godder K.T., Metha J., Chiang K.Y., Adams S., van Rhee F., Singhal S., Higgins-Smith K., O'Neal W., DeRienzo S., Henslee-Downey J.P. Partially mismatched related donor bone marrow transplantation as salvage for patients with AML who failed autologous stem cell transplant. *Bone Marrow Transplant* 2001 Dec;28(11):1031-6.
13. Peters C., Matthes-Martin S., Fritsch G., Holter W., Lion T., Witt V., Hocker P., Fischer G., Dieckmann K., Handgretinger R., Klingebiel T., Gadner H. Leukemia 1999 Dec;13(12):2070-8. Transplantation of highly purified peripheral blood CD34+ cells from HLA-mismatched parental donors in 14 children: evaluation of early monitoring of engraftment.
14. Storb R., Deeg H.J., Whitehead J., Appelbaum F., Beatty P., Bensinger W., Byckner C.D., Clift R., Doney K., Farewell V. et al. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med* 1986 Mar 20;314(12):729-35.
15. Ringden O., Klaesson S., Sundberg B., Ljungman P., Lonnqvist B., Persson U. Decreased incidence of graft-versus-host disease and improved survival with methotrexate combined with cyclosporin compared with monotherapy in recipients of bone marrow from donors other than HLA identical siblings. *Bone Marrow Transplant* 1992 Jan;9(1):19-25.
16. Reisner Y., Martelli M.F. Transplantation tolerance induced by «mega dose» CD34+ cell transplants. *Exp Hematol* 2000 Feb;28(2):119-27.
17. Ruggeri L., Capanni M., Casucci M., Volpi I., Tosti A., Perruccio K., Urbani E., Negrin R.S., Martelli M.F., Velardi A. Role of Natural Killer Cell Alloreactivity in HLA-Mismatched Hematopoietic Stem Cell Transplantation *Blood* 1999 94: 333-339.

