



УДК 616.832-004.2-06:615.275

Федулов А.С.¹, Борисов А.В.¹, Змачинский В.А.², Миланович Н.Ф.³, Кривенко С.И.³, Логинов В.Г.¹, Войтенкова А.А.⁴

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

³ 9-я городская клиническая больница г. Минска, Минск, Беларусь

⁴ Республиканская клиническая больница медицинской реабилитации, Минск, Беларусь

Fedulov A.¹, Borisov A.¹, Zmachinsky V.², Milanovich N.³, Krivenko S.³, Loginov V.¹, Voitenkova A.⁴

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Belarus

³ 9 City Clinical Hospital, Minsk, Belarus

⁴ Republican Clinical Hospital of Medical Rehabilitation, Minsk, Belarus

Токсикометрическая характеристика высокодозной полихимиотерапии в режиме BEAM-CSA с поддержкой аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с рассеянным склерозом

Toksikometric feature high-dose chemotherapy mode BEAM-CSA
with autologous transplantation of hemopoietic stem cells
in patients with multiple sclerosis

Резюме

Исследование проводилось с целью изучения безопасности и переносимости режима мобилизации гемопоэтических стволовых клеток и высокодозной полихимиотерапии по протоколу BEAM-CSA с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с рассеянным склерозом. В исследование были включены 24 пациента с рассеянным склерозом, которым выполнялась аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Результаты использования высокодозной полихимиотерапии по схеме BEAM-CSA при рассеянном склерозе позволяют рассматривать данный протокол в качестве адекватной технологии для предтрансплантационного кондиционирования.

Ключевые слова: рассеянный склероз, высокодозная полихимиотерапия, гемопоэтические стволовые клетки, аутологичная трансплантация.

Abstract

The study was conducted to investigate the safety and tolerability of the regime mobilization of hematopoietic stem cells and high-dose BEAM-CSA scheme chemotherapy, followed by autologous

stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis. The study included 24 patients with multiple sclerosis who underwent autologous transplantation of hematopoietic stem cells. The results of the use of high-dose chemotherapy according to the BEAM-CSA scheme in multiple sclerosis allow us to consider this protocol as adequate technology for pretransplantation conditioning.

Keywords: multiple sclerosis, high-dose chemotherapy, hematopoietic stem cells, autologous transplantation.

■ ВВЕДЕНИЕ

Предпосылкой для изучения эффективности высокодозной полихимиотерапии (ВПХТ) с поддержкой аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (АуТГСК) при рассеянном склерозе (РС) явились данные, накопленные при проведении ВПХТ пациентам, у которых РС был верифицирован как коморбидное состояние [1]. Эти наблюдения, а также положительные результаты применения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) на модели экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита у животных способствовали активизации проведения дальнейших исследований по применению ВПХТ+АуТГСК у пациентов с РС [2].

ВПХТ с поддержкой АуТГСК – технология, модифицирующая клиническое течение РС, ее использование сопровождается качественными иммунологическими изменениями, которые позволяют предположить, что помимо иммуносупрессивного эффекта имеет место функциональная переустановка иммунной системы [3–6].

ВПХТ+АуТГСК состоит из нескольких последовательных этапов:

- 1) мобилизация ГСК;
- 2) коллекция ГСК;
- 3) высокодозная полихимиотерапия;
- 4) реинфузия ГСК;
- 5) посттрансплантационный период, включающий апластическую фазу и фазу восстановления гемопоэза.

Наиболее предпочтительным источником ГСК у пациентов с РС является периферическая кровь, поскольку при этом достигается более быстрая реконституция. Кроме того, из периферической крови может быть получено достаточное для трансплантации количество стволовых клеток [7]. Протокол мобилизации ГСК включает введение циклофосфамида с последующим назначением гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) [8].

В настоящее время наиболее распространенным протоколом для предтрансплантационного кондиционирования при РС является режим BEAM-CSA, включающий использование кармустина, цитарабина, этопозида, мелфалана и циклоспорина. Он имеет среднюю интенсивность в отношении иммуносупрессивного действия, обладает лимфоаблативной и миелоаблативной активностью.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение безопасности и переносимости режима мобилизации ГСК и высокодозной полихимиотерапии по протоколу BEAM-CSA с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с РС.



■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 24 пациента с РС, верифицированным согласно критериям McDonald e.a. (2010 г.). ВПХТ с последующей АуТГСК проводилась на базе отделения трансплантации костного мозга УЗ «9-я ГКБ г. Минска». Период рекрутирования пациентов – 2011–2012 гг. Клинико-демографическая характеристика пациентов с РС приведена в табл. 1.

Средний возраст пациентов составил $38,1 \pm 9,4$ года, мужчин было 16 (66,7%), женщин – 8 (33,3%). Пациентов с рецидивно-ремиттирующим РС – 4 (16,6%), вторично-прогредиентным РС – 19 (79,2%), первично-прогредиентным РС – 1 (4,2%).

Протокол мобилизации включал:

- циклофосфамид в дозе 2500 мг/м^2 поверхности тела на 200 мл 0,9%-го раствора хлорида натрия, внутривенно капельно однократно;
- Г-КСФ в дозе 300 мкг подкожно 1 раз в день назначался со следующего дня после инфузии циклофосфамида до значительного повышения уровня лейкоцитов периферической крови, сопровождающегося увеличением содержания клеток-предшественников различных линий гемопоэза (CD34+ клетки).

Коллекцию (аферез) ГСК начинали при уровне CD34+ $20\text{--}40 \times 10^6/\text{л}$ в периферической крови или при содержании лейкоцитов более $2 \times 10^9/\text{л}$ и выполняли на сепараторе клеток крови Cobe Spectra («Фрезениус», Германия).

ВПХТ проводилась по протоколу BEAM-CSA (табл. 2).

Безопасность и переносимость режима мобилизации (циклофосфамид+Г-КСФ) и режима ВПХТ по протоколу BEAM-CSA определяли с помощью оценочной шкалы Национального института исследования рака (США) – NCI CTCAE (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events) [9]. В соответствии с данной шкалой неблагоприятные события подразделяются на 5 степеней тяжести: I – легкие, II – умеренные, III – тяжелые, но не угрожающие жизни; IV – угрожающие жизни, V – смерть. Оценивались гематологическая токсичность, нейротоксичность, кардиотоксичность, гепатотоксичность, гастроинтестинальные и другие нарушения.

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика пациентов с рассеянным склерозом, которым была выполнена АуТГСК (n=24)

Оцениваемый параметр	Значение
Количество пациентов	24
Пол, ж/м	8/16
Возраст, лет	$38,1 \pm 9,4^*$
Клиническая форма РС (n/%):	
Рецидивно-ремиттирующая клиническая форма РС	4/16,6%
Вторично-прогредиентная клиническая форма РС	19/79,2%
Первично-прогредиентная клиническая форма РС	1/4,2%
Длительность заболевания, лет	$4,9 \pm 2,5^*$
EDSS на этапе скрининга, баллы	4,0 [1,5; 5,0]**
Количество обострений за 1 год до АуТГСК	3 [0; 3]**

Примечания:

* – $m \pm \sigma$;

** – Me (межквартильный интервал).

Таблица 2
Схема проведения химиотерапии BEAM-CSA

Препарат	Суточная доза	Способ введения	День введения
BCNU	300 мг/м ²	внутривенно	-7
Этопозид	100 мг/м ² 2 раза в сутки	внутривенно	-6,-5,-4,-3
Цитарабин	100 мг/м ² 2 раза в сутки	внутривенно	-6,-5,-4,-3
Мелфалан	140 мг/м ²	внутривенно	-2
Циклоспорин	50 мг/м ²	внутривенно	-7,-6,-5,-4,-3

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количество пациентов, у которых производили коллекцию ГСК, и число проведенных процедур лейкафереза для сбора достаточной для трансплантации дозы ГСК приведены в табл. 3.

Таким образом, у пациентов с РС было достаточно одной процедуры лейкафереза для сбора дозы CD34+ клеток, необходимой для трансплантации у большинства пациентов. Объем лейкоконцентрата, как правило, составлял 500 мл и был достаточным для сбора CD34+ клеток в высокой дозе. Их содержание составляло в среднем $5,4 (3,2-15,6) \times 10^6/\text{кг}$ веса.

Токсичность режима мобилизации у пациентов с РС

Характеристика токсических осложнений, имевших место у пациентов с РС при проведении режима мобилизации, представлена в табл. 4.

Как видно из приведенных данных, среди токсических проявлений I степени тяжести имели место тошнота, лихорадка, гепатотоксичность. Среди проявлений токсичности II степени встречалась только рвота. Основные токсические проявления наблюдались в день инфузии циклофосфида (день 1-й). В последующие дни режима мобилизации у части пациентов отмечались субфебрильная температура (как побочное действие Г-КСФ) и тошнота. В описываемой группе пациентов токсичность III–IV степени не встречалась.

Таким образом, отмечается достаточно низкая токсичность применяемого у пациентов с РС режима мобилизации, что создает благоприятные условия для коллекции ГСК.

Таблица 3
Характеристики лейкоконцентрата, полученного для трансплантации ГСК пациентам с РС

Число пациентов	Лейкоконцентрат					
	число аферезов	объем (мл)	лейкоциты $\times 10^8/\text{кг}$	МНК $\times 10^9/\text{кг}$	CD34+, %	CD34+ $\times 10^6/\text{кг}$
24	1,2 (1–3)	500 (450–560)	10,3 (4,4–15,8)	3,5 (0,26–5,6)	0,9 (0,06–1,6)	5,4 (3,2–15,6)

Таблица 4
Частота токсических осложнений режима мобилизации у пациентов с РС

Дни режима мобилизации	Токсические осложнения					
	лихорадка		гепатотоксичность		гастроинтестинальные нарушения	
	I степень тяжести	II степень тяжести	I степень тяжести	II степень тяжести	I степень тяжести	II степень тяжести
1	3 (12,5%)	-	3 (12,5%)	-	18 (75,0%)	6 (25,0%)
3	6 (25,0%)	-	-	-	6 (25,0%)	-
6	-	-	-	-	6 (25,0%)	-
9	-	-	-	-	6 (25,0%)	-



Токсические осложнения высокодозной полихимиотерапии у пациентов с РС

Токсические осложнения по органам и системам определялись в дни 0, +7, +14 после завершения режима BEAM-CSA.

Гематологическая токсичность

Проявления гематологической токсичности среди пациентов с РС, которые проходили ВПХТ с поддержкой АуТГСК, оценивались по уровню лейкоцитов, гемоглобина и тромбоцитов (табл. 5–7).

Следовательно, все пациенты на протяжении раннего посттрансплантационного периода имели различную степень гематологической токсичности. Причем IV степень гематологической токсичности по уровню лейкоцитов и тромбоцитов имели все пациенты на +7 день после трансплантации. Наиболее быстрое восстановление из всех ростков гемопоэза имели лейкоциты (к +14 дню у всех пациентов была только I степень токсичности). Самый медленный рост был отмечен в отношении уровня тромбоцитов – к +14 дню токсичность не отмечалась только у 6 (25,0%) пациентов. Уровень гемоглобина к +14 дню не уменьшался ниже II степени тяжести у 12 (50,0%) пациентов.

Другие токсические проявления

В табл. 8 представлены токсические осложнения в виде тошноты, рвоты, диареи и гепатотоксичности у пациентов с РС при применении режима BEAM-CSA.

Таким образом, в день 0 проявления тошноты и рвоты отмечены: только тошнота (I степень) – у 21,0% пациентов; переходящая рвота

Таблица 5

Гематологическая токсичность по уровню лейкоцитов у пациентов с РС при применении режима BEAM-CSA

Дни после АуТГСК	Проявления гематологической токсичности по уровню лейкоцитов			
	I ст. тяжести	II ст. тяжести	III ст. тяжести	IV ст. тяжести
0	6 (25,0%)	18 (75,0%)	-	-
+7	-	-	-	24 (100,0%)
+14	18 (75,0%)	-	-	-

Таблица 6

Гематологическая токсичность по уровню гемоглобина у пациентов с РС при применении режима BEAM-CSA

Дни после АуТГСК	Проявления гематологической токсичности по уровню гемоглобина			
	I ст. тяжести	II ст. тяжести	III ст. тяжести	IV ст. тяжести
0	18 (75,0%)	-	-	-
+7	6 (25,0%)	6 (25,0%)	6 (25,0%)	-
+14	-	12 (50,0%)	-	-

Таблица 7

Гематологическая токсичность по уровню тромбоцитов у пациентов с РС при применении режима BEAM-CSA

Дни после АуТГСК	Проявления гематологической токсичности по уровню тромбоцитов			
	I ст. тяжести	II ст. тяжести	III ст. тяжести	IV ст. тяжести
0	12 (50,0%)	6 (25,0%)	-	-
+7	-	-	-	24 (100,0%)
+14	-	12 (50,0%)	-	6 (25,0%)

(II степень) – у 37,5% пациентов; токсичность III–IV степени не отмечена. Транзиторная диарея (I степень тяжести) на день 0 и +7 наблюдалась у 21,5%. Гепатотоксичность I ст. отмечена на день 0 у 37,5% пациентов и на день +7 у 20,1% пациентов.

Мукозит. Поражение слизистой оболочки полости рта в виде мукозита, соответствующее I степени тяжести, наблюдали у 5 (21,0%) пациентов на день 0 и на день +14 после режима BEAM. Явления мукозита, соответствующие II ст., также у 5 (21,5%) пациентов в дни 0 и +7, и у 9 (37,5%) пациентов на день +14. Выраженный мукозит (III степени тяжести) наблюдали на день +7 у 6 (25,0%) пациентов с РС.

Лихорадка. В рассматриваемой группе фебрильной лихорадки не зарегистрировано. Имела место субфебрильная температура тела (токсичность I степени тяжести), которая была отмечена на день 0 у 5 (21,0%) пациентов, на день +7 у 9 (37,5%) пациентов с РС и на день +14 вновь у 5 (21,0%) человек.

Необходимо отметить, что при применении режима BEAM-CSA у пациентов с РС не было зарегистрировано нейротоксичности, кардиотоксичности, легочной токсичности, нарушений свертываемости крови, а также метаболических нарушений.

Таким образом, используемый режим мобилизации ГСК, включающий применение циклофосфида и Г-КСФ, позволяет за одну процедуру лейкафереза собрать необходимую дозу CD34+ клеток и обладает низкой токсичностью. В некоторых исследованиях для создания коллекции ГСК применялся только Г-КСФ, однако частота рецидивов у пациентов с РС при использовании Г-КСФ без его комбинации с циклофосфамидом была выше [6].

Режимы кондиционирования классифицируются по интенсивности на режимы высокой, средней и низкой интенсивности, а по направленности действия на миелоаблативные (направленные на ГСК) и немиелоаблативные (обладающие лимфоаблативной активностью) [7].

Среди режимов высокой интенсивности в Северной Америке и Европе наиболее часто используется общее рентгеновское облучение (ОРО) в сочетании с циклофосфамидом [10]. Однако в ряде исследований показано, что интенсивная иммуносупрессия с использованием ОРО и последующей АуТГСК не является эффективным методом лечения пациентов с выраженной инвалидизацией и сопровождается летальностью, доходящей до 14%.

К числу режимов низкой интенсивности относят назначение циклофосфида с алемтузумабом или антиtimoцитарным иммуноглобулином. Риск летального исхода при использовании таких режимов незначительный, однако существует вероятность того, что аутореактивные

Таблица 8
Гастроинтестинальные нарушения и гепатотоксичность у пациентов с РС при применении режима BEAM-CSA

Дни после АуТГСК	Гастроинтестинальная токсичность и гепатотоксичность					
	тошнота, рвота		диарея		гепатотоксичность	
	I ст. тяжести	II ст. тяжести	I ст. тяжести	II ст. тяжести	I ст. тяжести	II ст. тяжести
0	5 (21,0%)	9 (37,5%)	5 (21,0%)	-	9 (37,5%)	-
+7	5 (21,0%)	9 (37,5%)	5 (21,0%)	-	5 (20,1%)	-
+14	9 (37,5%)	-	-	-	-	-



клетки могут либо выжить после режима кондиционирования, либо быть реинфузированы с трансплантатом [11].

В связи с вышеуказанным наибольший интерес представляют режимы средней интенсивности, наиболее распространенным из которых является BEAM-CSA.

Итак, режим мобилизации с использованием циклофосамида и Г-КСФ с последующей высокодозной полихимиотерапией по протоколу BEAM-CSA у пациентов с РС показали высокую эффективность в отношении получения лейкоконцентрата с необходимыми характеристиками и достаточно хорошую безопасность и переносимость. Наиболее часто у пациентов с РС отмечалась гематологическая токсичность, которая вместе с тем не сопровождалась тяжелыми инфекционными осложнениями и нарушением свертываемости крови. Гастроинтестинальные нарушения и гепатотоксичность имели легкую или, реже, умеренную выраженность. Нейротоксичность и кардиотоксичность у пациентов с РС после применения режима BEAM-CSA не отмечались. Таким образом, данные по применению схемы BEAM-CSA в качестве режима кондиционирования, полученные в результате проведенных исследований, позволяют предположить, что он обладает хорошим профилем эффективности и безопасности в качестве адекватной технологии при проведении ВПХТ с поддержкой АуТГСК при РС.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Mandalino P., Rice G., Smith A., Klein J.L., Rystedt L., Ebers G.C. (2000) Bone marrow transplantation in multiple sclerosis. *J. Neurol.*, no 247, pp. 691–695.
2. Van Bekkum D.W. (2004) Stem cell transplantation for autoimmune disorders. Preclinical experiments. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, no 17, pp. 201–222.
3. Atkins H.L., Freedman M.S. (2013) Hematopoietic stem cell therapy for multiple sclerosis: top 10 lessons learned. *Neurotherapeutics*, vol. 10 (1), pp. 68–76.
4. Burman J.I., Iacobaeus E., Svenningsson A. (2014) Autologous haematopoietic stem cell transplantation for aggressive multiple sclerosis: the Swedish experience. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol. 85 (10), pp. 1116–1121.
5. Freedman M.S. (2014) Multiple sclerosis: does aggressive MS warrant aggressive treatment? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol. 10 (7), pp. 368–370.
6. Lublin F.D., Reingold S.C., Cohen J.A.R. (2014) Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*, vol. 83 (3), pp. 278–286.
7. Saccardi R., Mancardi G.L., Solari A., Bosi A., Bruzzi P., di Bartolomeo P. (2005) Autologous HSCT for severe progressive multiple sclerosis in a multicenter trial: impact on disease activity and quality of life. *Blood*, vol. 105, pp. 2601–2607.
8. Burt R.K., Marmont A., Oyama Y., Slavin S., Arnold R., Hiepe F. (2006) Randomized controlled trials of autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: the evolution from myeloablative to lymphoablative transplant regimens. *Arthritis Rheum.*, vol. 54, pp. 3750–3760.
9. Launay-Vacher V. (2013) Cancer and the kidney: individualizing dosage according to renal function. *Ann Oncol.*, 24: 2713.
10. Samijn J.P., De Boekhorst P.A., Mondria T. (2006) Intense T cell depletion followed by autologous bone marrow transplantation for severe multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, no 77, pp. 46–50.
11. Cipriani P., Carubbi F., Liakouli V. (2013) Stem cells in autoimmune diseases: Implications for pathogenesis and future trends in therapy. *Autoimmun. Rev.*, vol. 12 (7), pp. 709–716.