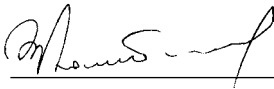


**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра здравоохранения



В.В. Колбанов

31 декабря 2003 г.

Регистрационный № 137–1103

**ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ВЗРОСЛЫХ
С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: Республиканский центр гематологии и трансплантации костного мозга

Авторы: д-р мед. наук А.Л. Усс, канд. мед. наук Н.Ф. Миланович, Н.С. Соловьева, канд. мед. наук В.А. Змачинский, канд. мед. наук П.Б. Мицкевич, И.Л. Завгородняя, З.Е. Батан, В.Н. Смольникова

ВВЕДЕНИЕ

Совершенствование онкологической и гематологической служб предусматривает внедрение в практику здравоохранения методов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Достигнутые в последние годы успехи в химиотерапии гемобластозов в первую очередь связаны с назначением адекватных доз цитостатических препаратов и проведением высокодозной полихимиотерапии (ПХТ). Однако, в ряде случаев (при острых лейкозах, хроническом миелолейкозе (ХМЛ), апластической анемии (АА), миелодиспластическом синдроме (МДС)) ее проведение наиболее эффективно в сочетании с аллогенной ТГСК. При лимфогранулематозе (ЛГМ), лимфомах, некоторых солидных опухолях (особенно в случаях резистентности к химиотерапии и рецидивов заболевания) методом выбора является аутологичная ТГСК с массивной химиотерапевтической подготовкой.

Успех трансплантации в каждом конкретном случае определяется преимущественно в лечении больного, что определяется, в числе прочего, уровнем подготовленности врачей различных специальностей на каждом из этапов оказания медицинской помощи. Поэтому важным аспектом в работе службы трансплантации является партнерство с лечебно-профилактическими учреждениями Республики Беларусь.

Данная инструкция предназначена для гематологов, онкологов и врачей общей практики.

ОПИСАНИЕ МЕТОДА

В основе метода ТГСК лежит использование трансфузии взвеси гемопоэтических клеток с целью предотвращения фатальной депрессии кроветворения, обусловленной назначением реципиенту максимально переносимых (миелоаблативных) доз цитостатических препаратов и/или лучевой терапии.

В зависимости от источника получения трансплантируемых клеток выделяют следующие виды ТГСК:

1. Аллогенные ТГСК (трансплантация костного мозга (ТКМ) или трансплантация стволовых клеток периферической крови (ТСКПК)), при которых источниками гемопоэтических стволовых

клеток являются костный мозг (КМ) или периферические стволовые клетки крови (ПСКК), полученные путем машинного афереза после мобилизации рекомбинантными факторами роста здорового родственного или неродственного донора, полностью или частично совместимого с реципиентом по HLA-системе.

2. Аутологичные ТГСК (ТКМ или ТСКПК), при которых источниками гемопоэтических стволовых клеток являются КМ или ПСКК больного, находящегося в состоянии полной клинико-гематологической ремиссии (ПКГР) или не имеющего признаков поражения метастатическим процессом.

3. Сингенные ТГСК (ТКМ или ТСКПК), когда донором является гомозиготный близнец, генетически абсолютно идентичный с реципиентом.

ПОКАЗАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

С каждым годом во всем мире, в том числе в странах Европы ТГСК проводят всё чаще. По данным Международного регистра по трансплантации костного мозга (ЕВМТR), ежегодно выполняются около 17 000 аллогенных и 30 000 аутологичных ТГСК. При этом в последние годы в структуре трансплантаций существенно увеличивается удельный вес ТСКПК, а также трансплантаций от неродственных доноров. У взрослых наиболее частой причиной применения в качестве метода терапии одного из видов ТГСК, выбор которого в свою очередь зависит от характера заболевания и наличия совместимого по HLA-системе донора, являются гемобласты.

Показания к аллогенной ТГСК у взрослых

При наличии совместимого по HLA-системе донора показаниями к аллогенной ТГСК у взрослых являются:

- острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) (кроме М3 по ФАБ-классификации);
- острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ);
- МДС;
- ХМЛ;
- злокачественная лимфома (ЗЛ);
- множественная миелома (ММ);

- хронический лимфолейкоз (ХЛЛ);
- первичный миелофиброз (ПМФ);
- АА;
- талассемия.

При этом *абсолютными* показаниями к аллогенной ТГСК считаются следующие формы заболеваний: АА, ХМЛ, ОМЛ, МДС, ОЛЛ (высокий риск). Целесообразность проведения ТГСК при других нозологиях определяется стадией заболевания, гистологическим (морфологическим) вариантом и присутствием отрицательных прогностических факторов риска. Аллогенная трансплантация при острых лейкозах может быть выполнена как в первой ПКГР, так во второй и последующих ПКГР, а также в начинающемся рецидиве.

Показания к аутологичной ТГСК у взрослых

Показаниями к аутологичной ТГСК у взрослых являются:

- ЗЛ;
- ЛГМ;
- ММ;
- ОМЛ (кроме М3 по ФАБ-классификации);
- ОЛЛ;
- рак молочной железы;
- аутоиммунные заболевания (рассеянный склероз и др.).

Применение ауто-ТГСК при АА, ХМЛ и ХЛЛ также возможно, но при этом необходимо использовать методы «очистки» трансплантата как *in vivo* (интенсивная терапия), так и *ex vivo* (моноклональные антитела, длительное культивирование) в связи со сложностью достижения состояния ПКГР у больных данной категории.

Часть показаний для выполнения как алло-, так и ауто-ТГСК до сих пор являются предметом дискуссии в связи с отсутствием достаточных клинических представлений об отдаленных результатах терапии этим методом. Однозначного мнения о сроках выполнения ТГСК при ОЛЛ, ОМЛ, ХЛЛ и ПМФ нет, поскольку результаты ПХТ в некоторых случаях не уступают эффективности ТГСК. Существенное влияние на результаты ауто-ТГСК при острых лейкозах оказывает срок от даты достижения ремиссии до получения трансплантата гемопоэтических стволовых клеток.

Следует отметить, что не существует экстренных показаний к выполнению того или иного вида ТГСК. Всегда необходима тща-

тельная подготовка, в том числе психологическая, больного и его родственников. При этом выбор метода лечения часто бывает сложным за счет того, что методы ТГСК, приводящие к полному излечению больного, более опасны (особенно на ранних этапах) по сравнению с ПХТ — менее интенсивной и безопасной терапией, но неэффективной в плане долгосрочного прогноза.

ЭТАПЫ ПРОВЕДЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Подбор донора

Одним из основных факторов, обуславливающих успешность выполнения алло-ТГСК, является подбор донора, совместимого с реципиентом по HLA-системе. Антигены HLA-системы I класса кодируются 17 генами, которые подразделяются на локусы A, B и C. В состав антигенов HLA-системы II класса входит D-регион, специфичность которого определяют 15 генов, в свою очередь разделенные на субрегионы DR, DQ, DP, DN и DO. Наиболее важным из них при алло-ТГСК является субрегион DR.

Типирование антигенов HLA-системы I и II классов может осуществляться при помощи специальных иммунных сывороток в лимфоцитотоксическом тесте, молекулярно-биологическими способами и с помощью моноклональных антител. Определение степени совместимости донора и реципиента по HLA-системе II класса возможно в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ). Идентичность донора с реципиентом по HLA-системе I и II классов свидетельствует о наличии полностью совместимого донора. Несовпадение по 1, 2 и 3 антигенам HLA-системы указывает на частичную совместимость.

Донором гемопоэтических стволовых клеток может быть совместимый с реципиентом по HLA-системе здоровый человек без ограничений по возрасту. В литературе упоминается о самом молодом доноре КМ, которому было 4 мес., а масса тела составляла 3,95 кг. Различия по группе крови и половой хромосоме при выборе донора значения не имеют.

Алгоритм подбора пар «донор-реципиент»

1. Типирование реципиента и всех его сибсов по антигенам I класса системы HLA.

2. Выбор предполагаемых доноров, совместимых с реципиентом по антигенам локусов, А и В системы HLA.

3. Типирование реципиента и совместимых с ним сибсов по антигенам гистосовместимости II класса — локусы DR, DQ и DP.

4. Проведение кросс-матч реакции между мононуклеарами (МНК) и сывороткой крови реципиента и предполагаемых доноров.

5. Определение фенотипа эритроцитов донора и реципиента по различным антигенным системам.

6. Постановка СКЛ между клетками реципиента и совместимого сибса.

7. Проведение теста подвижности лимфоцитов.

Забор трансплантата осуществляется в соответствии с требованиями приказа Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 150 от 20.07.1997 г. при соблюдении следующих условий:

– предупреждение донора о возможном ухудшении его здоровья в связи с будущим оперативным вмешательством;

– наличие согласия донора на операцию, выраженного в письменной форме и заверенного нотариально (для лиц, не достигших 18-летнего возраста, — письменного заверенного согласия родителей или органа опеки);

– всестороннее обследование донора и наличие заключения врачей-специалистов о возможности забора КМ.

Получение и обработка трансплантата КМ

Взятие КМ выполняется под общей или перидуральной анестезией в условиях операционной. Положение больного — лежа на животе. КМ аспирируется иглами большого диаметра путем множественных пункций гребня крыла подвздошной кости с обеих сторон в шприцы, содержащие антикоагулянт (гепарин и электролитная среда «Medium-199» в соотношении 100 ед./мл). Через 6–8 проколов кожи осуществляется от 100 до 200 проколов кости в радиальных направлениях. Клеточность трансплантата КМ должна составлять не менее $1,0-10^8$ ядросодержащих клеток (ЯСК) на 1 кг массы тела реципиента при ауто-ТГСК и не менее $2,0-10^8$ ЯСК — при аллогенных трансплантациях. Объем аспирируемой костномозговой взвеси определяется в зависимости от количества ЯСК, веса больного и необходимости дополнительных манипуляций с полученным

трансплантатом (удаление плазмы и/или эритроцитов), но не более 10–15 мл на 1 кг массы тела донора. Подсчет количества ЯСК в коллекционном мешке проводится в процессе забора трансплантата. Аспират КМ очищается от мелких костных обломков, сгустков крови и частично от жира путем последовательного прохождения трехступенчатой системы фильтров с диаметром пор 500, 200 и 200 микрон. В случаях несовместимой по системе АВ0 алло-ТКМ и при ауто-ТКМ после фильтрации проводится процессинг костномозговой взвеси или концентрирование. Применяется ручной или автоматизированный метод выделения фракции МНК.

Ручной метод: плазма удаляется при помощи плазмоекстрактора после центрифугирования клеточной взвеси в течение 10 мин при 2 000 g при 22° С. Процедура уменьшает объем плазмы крови на 70–75%. Седиментация эритроцитов проводится с помощью гидроксиптилкрахмала.

Автоматизированный метод: сепарация КМ производится на клеточном сепараторе, криоконсервирование КМ — на программном замораживателе.

Получение и обработка трансплантата ПСКК

Мобилизация ПСКК у больных может выполняться с помощью цитостатиков (циклофосфан (ЦФ) дозе 4–7 г/м², протокол ВЕАМ и др.) в сочетании с ростовыми факторами. ЦФ в дозе 2 или 4 г/кг вводится внутривенно однократно в течение 1 ч, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ, филграстим, ленограстим) или грануломоноцитарный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ, молграмостин) вводятся подкожно спустя 24 ч после окончания введения ЦФ, ежедневно; последнее введение КСФ — непосредственно перед последним лейкоферезом. Выполнение лейкофереза начинается в ранней фазе восстановления клеток периферической крови после миелосупрессии.

Основным средством для мобилизации ПСКК у здоровых доноров являются рекомбинантные ростовые факторы Г-КСФ и ГМ-КСФ (нейпоген, граноцит, лейкомакс) в дозе 10 мкг/кг/сут в течение 5–6 дней. Аферез ПСКК проводят обычно на 4-й, 5-й и 6-й дни. В это время наблюдается значительное повышение количества лейкоцитов периферической крови (в 4–10 раз), сопровождающее-

ся увеличением уровня клеток-предшественников различных линий гемопоэза (CD34+). Критерием адекватности дозы ПСКК для аутологичной трансплантации является количество МНК, превышающее $4-8-10^8/\text{кг}$, или количество CD34+ клеток более $5-10^8/\text{кг}$.

Коллекция ПСКК выполняется на сепараторе клеток крови. В качестве антикоагулянта используется цитратный раствор в декстрозе, формула А (ACD-A). Могут использоваться следующие методики лейкафереза:

1. Стандартная программа WBC-MNC, соотношение антикоагулянт:кровь равно 1:12.

2. Лейкаферез большого объема, характеризующийся продлением времени процедуры и увеличением объема процессированной крови до более 3 общих объемов крови пациента при сохранении других параметров лейкафереза, предлагаемых программой. Соотношение антикоагулянт:кровь — 1:12.

3. Высокоскоростной лейкаферез большого объема. Сепаратор настраивается на максимальную скорость забора, которую ограничивает лишь пропускная способность венозного катетера. При этом, чтобы исключить цитратную интоксикацию, скорость инфузии ACD-A снижается до 1 мл/л общего объема крови пациента в минуту, соотношение антикоагулянт:кровь — менее 1:17 (минимальное значение — 1:40). Скорость коллекции лейкоконцентрата устанавливается в пределах 2–10% от скорости забора крови. Для предотвращения тромбообразования в коллекционном мешке в него дополнительно добавляется ACD-A в соотношении 1:12. Полученный первичный лейкоконцентрат центрифугируется в течение 12 мин ($3\ 000\ \text{об./мин}$), концентрируется удалением плазмы до $50-500 \times 10^9/\text{л}$ ЯСК. Удаленный избыток плазмы инфузируется пациенту в процессе лейкафереза или сразу после процедуры.

Для обеспечения адекватного венозного доступа при проведении лейкафереза проводится катетеризация периферических, а при их отсутствии — центральных вен (подключичной, яремной или бедренной).

Замораживание и хранение ПСКК. Забранный трансплантат подвергается сепарации путем седиментации с использованием декстранов и криоконсервированию в жидком азоте с использова-

нием 10% раствора диметилсульфоксида (ДМСО) на программном замораживателе.

Подготовка больного к ТГСК

Больные госпитализируются за 15–20 дней до ТГСК. Начиная с момента проведения режима кондиционирования целесообразно соблюдение следующих условий:

1. Изоляция пациента в ламинарном боксе.
2. Проведение постоянного клинического и лабораторного мониторинга.
3. Наличие тоннелированного под кожей многолинейного центрального венозного катетера (ЦВК), устанавливаемого заблаговременно.
4. Введение медикаментов с использованием инфузионных насосов.
5. Применение тромбоконцентрата, полученного на сепараторе клеток крови и облученного на гамма-установке перед трансфузией с целью уменьшения иммунизации донорскими лейкоцитами.

Особенностями многолинейного ЦВК являются:

- подкожная тоннелизация, которая значительно увеличивает расстояние от сосуда до места выхода катетера из-под кожи, уменьшая тем самым риск инфекции;
- дакроновая манжетка, которая активизирует фибробласты и, срастаясь с тканями, фиксирует катетер, предотвращая экстракатериальную миграцию микроорганизмов;
- использование специального рентгеноконтрастного гибкого атромбогенного силиконированного материала;
- установка кончика катетера в правое предсердие или на границе верхней полой вены и правого предсердия, что имеет большое значение при введении склерозантов;
- баллотирование кончика катетера с каждым сердечным циклом, что уменьшает контакт с эндотелием и вероятность развития тромботических осложнений;
- наличие более одного просвета, что позволяет одновременно вводить химически несовместимые медикаменты.

Вышеуказанные преимущества катетера позволяют использовать его в течение длительного времени — от нескольких недель до нескольких месяцев, в том числе амбулаторно.

Режим кондиционирования

Режимом кондиционирования называется назначение миелоаблативных доз цитостатических препаратов или лучевой терапии с целью достижения высокого уровня иммуносупрессии (при алло-ТГСК) и полной эрадикации кроветворения (нормального и злокачественного клонов) реципиента перед введением ему гемопоэтических стволовых клеток КМ или периферической крови. От адекватности иммуносупрессии реципиента зависят приживание трансплантата и вероятность его отторжения после ТГСК. Выбор комбинации различных цитостатиков и лучевой терапии перед ТГСК зависит от вида ТГСК (алло- или ауто-), нозологической формы и стадии заболевания.

Наиболее распространенными режимами кондиционирования при проведении алло-ТГСК являются:

- бусульфан 16 мг/кг + ЦФ 120 мг/кг;
- бусульфан 16 мг/кг + ЦФ 120 мг/кг + вепезид 30–45 мг/кг;
- тотальное облучение тела (ТОТ) в дозе 10–12 Гр + ЦФ 120 мг/кг;
- бусульфан 16 мг/кг + ЦФ 120 мг/кг + цитозар 8 г/м²;
- ЦФ 120 мг/кг + антиtimoцитарный глобулин (АТГ) 30 мг/кг;
- бусульфан 16 мг/кг + ЦФ 120 мг/кг + АТГ 30 мг/кг.

Включение ТОТ в режим кондиционирования особенно актуально у больных ОЛЛ, ЗЛ, ММ, а также при выполнении неродственной ТГСК и использовании частично совместимого или гаплоидентичного донора.

Для достижения максимального иммуносупрессивного воздействия возможно дополнительное включение в режим кондиционирования антиlimфоцитарного (антиtimoцитарного) глобулина (АЛЛ АТГ), что особенно актуально при АА. Кроме того, введение АТГ в режим кондиционирования или его назначение в течение раннего посттрансплантационного периода служит мерой профилактики отторжения трансплантата и развития острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ).

Для выполнения аутотрансплантаций используется как большинство перечисленных схем высокодозной лучевой и химиотерапии, так и принципиально новые комбинации цитостатиков, что зависит в первую очередь от характера заболевания.

Так при ОЛЛ и ОМЛ трансплантации может предшествовать назначение следующих режимов кондиционирования:

- бусульфан 16 мг/кг + ЦФ 120 мг/кг;
- бусульфан 16 мг/кг + ЦФ 120 мг/кг + вепезид 30–45 мг/кг;
- ТОТ в дозе 10–12 Гр + ЦФ 120 мг/кг.

При ЗЛ и ЛГМ чаще применяются следующие режимы:

- ЦФ 4,5–7,2 г/м² + кармустин 450–600 мг/м² + вепезид 1,2–2 г/м²;
- кармустин 300 мг/м² + вепезид 400 мг/м² + цитозар 800 мг/м² + мелфалан 140 мг/м²;
- кармустин 300 мг/м² + вепезид 400 мг/м² + цитозар 800 мг/м² + ЦФ 140 мг/м².

При ММ наряду с ТОТ в комбинации с ЦФ (мелфаланом) установлена эффективность мегадоз мелфалана (180–240 мг/м²).

При раке молочной железы:

- митоксантрон 45 мг/м² + ЦФ 60 мг/кг + мелфалан 140 мг/м²;
- циклофосфамид 1 875 мг/м² + платамин 55 мг/м² + BCNU 450 мг/м².

Однако, достаточно высокая частота рецидивов после ТГСК свидетельствует об отсутствии возможности полной эрадикации злокачественного клона только методами, увеличивающими интенсивность цитостатической нагрузки. В настоящее время перспективным направлением является применение различных видов адаптивной иммунотерапии (интерлейкин-2, интерферон, введение донорских лимфоцитов) в сочетании с высокодозной ПХТ. При этом в качестве предтрансплантационной подготовки могут быть использованы немиелоаблативные режимы кондиционирования, вызывающие у реципиента состояние иммунологической толерантности, что позволяет рассчитывать на приживание гемопоэтических клеток донора и развитие РТПХ, например:

- флюдарабин 125 мг/м² + мелфалан 180 мг/м²;
- флюдарабин 120 мг/м² + цитозар 8 г/м² + идарубицин 12 мг/м².

Процедура трансплантации

Методика аллогенной трансплантации. Трансфузия КМ и ПСКК проводится в день 0 в периферическую вену со скоростью 500 мл/ч. За 30 мин до начала переливания костномозговой взвеси проводится премедикация, состоящая из внутривенной струйной инфузии противошоковых и диуретических препаратов.

Методика аутологичной трансплантации. В день трансплантации (день 0) пакеты с замороженным трансплантатом, находящиеся в емкости с жидким азотом, доставляются в палату. Размораживание пакетов производится в асептических условиях в водяной бане при температуре 43° С непосредственно перед реинфузией взвеси гемопоэтических стволовых клеток больному, которая осуществляется шприцами емкостью 50 мл в ЦВК струйно медленно. В связи с низкой температурой инфузируемой смеси и угрозой развития осложнений целесообразно проведение мониторинга показателей деятельности сердечно-сосудистой системы. В большинстве случаев при введении охлажденной клеточной взвеси наблюдается брадикардия, несмотря на предварительное введение атропина. В отдельных случаях наблюдаются следующие осложнения: одышка, кашель, тошнота, рвота, кожная реакция по типу эритемы, артериальная гипертензия, гиперсаливация. Реинфузия замороженных клеток часто сопровождается незначительным гемолизом, требующим контроля уровня гемоглобина и эритроцитов крови, а также выполнения серии общих анализов мочи.

Мониторинг состояния больных

Терапия кондиционирования, обладая высокой цитостатической и иммуносупрессивной активностью, вызывает токсические эффекты, что требует обязательного динамического наблюдения за состоянием органов и систем организма. На основе данных литературы и собственного опыта разработан алгоритм мониторингового наблюдения за состоянием больного с целью минимизации токсических осложнений в течение проведения протокола кондиционирования и последующего нейтропенического периода. Мониторинг состояния больных включает:

1. Общий анализ крови — ежедневно.
2. Общий анализ мочи — ежедневно.
3. Биохимический анализ крови (билирубин, АсАТ, АлАТ, мочевины, креатинин) — ежедневно.
4. Определение уровня электролитов (K, Na, Ca, Mg), глюкозы в плазме — ежедневно, при необходимости — 3 раза в сутки.
5. Измерение температуры тела, пульса, артериального давления, частоты дыхания, центрального венозного давления — 4–6 раз в сутки.

6. Измерение веса больного — 1–2 раза в сутки.
7. Подсчет массы съеденной пищи и объема выпитой жидкости за сутки — ежедневно.
8. Суточный диурез — ежедневно.
9. Объем и кратность стула в течение суток — ежедневно.
10. Определение уровня К, Na, мочевины, глюкозы (при необходимости) в суточной моче — ежедневно.
11. ЭКГ, рентгенография органов грудной полости — один раз в неделю и по показаниям.
12. Анализ на маркеры гепатитов В, С, дельта, цитомегаловируса (ЦМВ), вируса Эпштейна — Барра (ЭБВ), вируса простого герпеса (ВПГ) до ТГСК и по показаниям.
13. Бактериологическое исследование: посевы из 7 эпитопов (зев, надключичная, подмышечная, паховая, перианальная области, область препуциального кольца или влагалища, ануса) — один раз в неделю.
14. Уровень циклоспорина А (ЦсА) в крови (при алло-ТГСК) — 2 раза в неделю.

Мониторинг приживления трансплантата

Одним из важных разделов проблемы ТКМ является лабораторный контроль функционирования трансплантата в организме реципиента. С целью контроля приживления трансплантата и выбора групповой принадлежности трансфузируемых компонентов крови (в случаях несовместимой по системе АВ0 ТГСК) проводится динамическое исследование эритроцитарных антигенов, титров изогемагглютининов и цитогенетический анализ лейкоцитов периферической крови реципиентов КМ по следующей схеме:

1. Контроль эритроцитарной химеры: по предварительно выбранному антигенному маркеру (с целью выбора маркера для контроля посттрансплантационного химеризма) определяли антигены систем АВ0, Rh-Hr, MN, P, Levis один раз в 1–2 недели, начиная со дня +14, в течение периода восстановления основных показателей гемопоэза. Затем один раз в месяц в течение полугода, один раз в 3 мес. до года и один раз в 6 мес. в течение долгосрочного наблюдения.

2. Контроль цитогенетической химеры (половой хроматин), при разнополых ТГСК - 1 раз в 1–2 недели, начиная со дня +14, в

течение периода восстановления основных показателей гемопоэза, затем 1 раз в месяц в течение полугода, 1 раз в 3 мес. до года и 1 раз в 6 мес. в течение долгосрочного наблюдения.

СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Гемотрансфузионная терапия

С целью снижения иммуногенности все компоненты крови, переливаемые реципиентам гемопоэтических стволовых клеток, целесообразно подвергать гамма-облучению в дозе 30 Гр и трансфузировать с использованием антилейкоцитарных фильтров. Абсолютным показанием к трансфузии эритроцитарной массы является уровень гемоглобина ниже 60 г/л и число эритроцитов менее $2,0 \times 10^{12}/л$. В качестве трансфузионной среды используются преимущественно отмытые эритроциты. Трансфузии тромбоцитов показаны при их уровне в периферической крови менее $5,0 \times 10^9/л$. Наличие клинических проявлений геморрагического синдрома и/или гипертермии и инфекций служит показанием для трансфузии тромбоконцентрата при уровне тромбоцитов в пределах $5,0-20,0 \times 10^9/л$. Используются тромбоциты, полученные от одного донора методом тромбоцитозфереза. Компоненты крови, полученной от доноров, состоящих в родстве с больным, при алло-ТГСК предпочтительно не использовать.

При различиях групп крови донора и реципиента по системе АВ0 выбор групповой принадлежности гемотрансфузионной среды осуществляется в соответствии с иммунологической реактивностью в соответствии с результатами определения эритроцитарных антигенов и изогемагглютининов донорского типа в периферической крови реципиента.

Профилактика РТПХ

С целью профилактики острой РТПХ применяется комбинация ЦсА с метотрексатом и/или метилпреднизолоном:

1. ЦсА в начальной суточной дозе 5 мг/кг веса больного внутривенно в течение 3 сут (со дня -1 до дня +1). Со дня +2 доза препарата снижается до 3 мг/кг до момента восстановления основных показателей гемопоэза. Затем ЦсА назначается перорально в суточной дозе 12,5 мг/кг, разделенной на два приема. Снижение дозы

ЦсА при отсутствии признаков острой РТПХ проводится градуировано, в среднем на 5% в неделю, начиная со дня + 30, с отменой ко дню +360.

2. Метотрексат внутривенно струйно в следующих дозах: день +1 — 15 мг/м², дни +3, +6, +11 — 10 мг/м².

3. Метилпреднизолон (солумедрол) внутривенно струйно вточной дозе 0,5 мг/кг в течение 30 дней, начиная со дня +1.

Профилактика отторжения трансплантата

С целью профилактики отторжения трансплантата применяется нижеследующий комплекс мероприятий:

– строгое ограничение показаний к трансфузиям компонентов крови;

– гамма-облучение всех переливаемых компонентов крови;

– трансфузии компонентов крови через антилейкоцитарные фильтры;

– отказ от использования компонентов крови, полученных от родственных доноров;

– длительная иммуносупрессивная профилактика (ЦсА до года после ТГСК);

– длительная профилактика вирусных инфекций (ацикловир до года после ТГСК);

– соблюдение охранительного режима.

Профилактика судорожного синдрома: карбамазепин — 5 мг/кг в день со дня –14 до дня +3 (профилактика генерализованных судорог, которые может вызвать прием высоких доз бусульфана).

Профилактика геморрагического цистита: месна (уромитоксан) внутривенно капельно в следующих дозах: дни –3, –2 — 120 мг/кг в день, день –1 — 36 мг/кг в день (суммарная доза — 156 мг/кг); или раствор натрия гидрокарбоната 8,4% 10–15 мл/ч внутривенно капельно на 0,9% физиологическом растворе или 5% растворе глюкозы.

Гастропротекция: циметидин (ранитидин, омепразол, фамоцид и др.) внутрь в профилактических дозах со дня –7 до восстановления показателей гемопоза.

Профилактика веноокклюзионной болезни: гепарин — 1 000 ед./10 кг в день внутривенно капельно со дня –1 до снижения уровня тромбоцитов ниже $50,0 \times 10^9/\text{л}$.

Профилактика цитолитической гиперурикемии: аллопуринол в таблетках, 10 мг/кг/сут в 2 приема с первого дня кондиционирования до дня –2 включительно (кроме АА).

Профилактика рвоты: ондантсетрон (зофран) — 8 мг до 3 раз в сутки. Можно использовать другие противорвотные препараты.

Гидратация: 0,9% физиологический раствор, 5% раствор глюкозы, раствор Рингера — 3 л/м²/сут внутривенно капельно. Скорость инфузии — 200–300 мл/ч.

Профилактика и лечение инфекционных осложнений

Профилактика бактериальной инфекции:

1. Ко-тримоксазол — 480 мг одн раз в сутки перорально. Предотвращает инфекции, вызываемые пневмоцистами, пневмококками и гемофильной палочкой, активен в отношении золотистого стафилококка и грамотрицательных бактерий кишечника.

2. Ципрофлоксацин — 250 мг каждые 12 ч или левофлоксацин — 400 мг один раз в сутки перорально. Позволяет снизить риск развития эндогенной кишечной инфекции.

Профилактика вирусной инфекции:

1. Ацикловир в дозе 200 мг каждые 8 ч перорально. При наличии у больного высокого риска реактивации опоясывающего герпеса может быть проведена кратковременная профилактика ацикловиром — 600–800 мг 4 раза в день перорально в течение 3–5 дней.

2. Ганцикловир в дозе 5–10 мг/кг/сут внутривенно или 3,0 г/сут внутрь. Длительность применения следует подбирать индивидуально, в зависимости от ЦМВ-статуса реципиента и донора, но она должна составлять не менее 3 мес. для предупреждения поздних ЦМВ-инфекций.

Профилактика грибковой инфекции:

1. Изоляция больных в боксах с воздухом, фильтруемым через НЕРА-фильтры, удаляющие споры грибов.

2. Нистатин перорально — 500 тыс. ЕД каждые 8 ч либо флуконазол перорально — от 50 до 400 мг один раз в сутки.

Профилактика катетерассоциированных инфекций:

1. Максимальное соблюдение режима асептики и антисептики. Обработка кожи вокруг катетеров антисептиками (хлоргексидин, димексид, йодсодержащими препаратами) или антибиотиками.

2. Использование катетеров, которые снижают риск развития катетерассоциированных инфекций («Хикман»).

3. После установки центрального катетера — кратковременное внутривенное назначение препаратов пенициллинового ряда (пенициллин, ампициллин) либо цефалоспоринов 1–2-го поколения в течение 3–5 дней.

Лечение инфекционных осложнений у больных в периоде нейтропении

Течение инфекции у больных с нейтропенией отличается тяжестью и быстрым прогрессированием при скудности ее клинических проявлений. Повышение температуры тела зачастую является единственным проявлением текущего инфекционного процесса. Поэтому у больных в состоянии нейтропении даже при отсутствии других клинических проявлений инфекционного процесса показанием для начала терапии антибиотиками являются:

– однократное повышение температуры тела $>38,5^{\circ}\text{C}$ при содержании нейтрофилов крови менее $1,0 \times 10^9$ клеток/л;

– двукратное повышение температуры тела $>38^{\circ}\text{C}$, измеренной с интервалом в 1 ч при содержании нейтрофилов крови менее $0,5 \times 10^9$ или менее $1,0 \times 10^9$ клеток/л с тенденцией к дальнейшему снижению их количества.

Выбор схемы лечения может определяться источником инфекции. Однако в ряде случаев выявить очаг инфекции при физикальном и инструментальном обследовании не удастся. Во всех случаях необходимо проведение исследований крови на стерильность. В подавляющем большинстве случаев терапия начинается эмпирически, то есть до получения подтверждения инфекции бактериологическими методами. Основная роль принадлежит антибиотикам широкого спектра действия. Обязательным является использование препаратов, направленных против грамотрицательных возбудителей, ввиду остроты и тяжести вызываемых ими инфекционных осложнений.

При лечении инфекции у пациентов с нейтропенией используются комбинации беталактама и аминогликозида. Аминогликозид, помимо усиления действия беталактама, помогает контролировать инфекцию при резистентности к последнему. Однако использование

аминогликозидсодержащих комбинаций увеличивает риск нефротоксичности. В то же время такие комбинации имеют клиническое преимущество только при грамотрицательной бактериемии у пациентов с длительной гранулоцитопенией. Появление в клинической практике активных антибиотиков с широким спектром действия, таких как цефтазидим (фортум, тазицеф), имипенем (тиенам), меропенем (меронем), цефепим (максипим), пиперациллин/тазобактам (тазоцин), открыло новые возможности терапии. Монаотерапия антибиотиком широкого спектра действия на первом этапе вполне адекватна и ее модифицирование необходимо лишь при получении клинических или микробиологических данных. Однако, ввиду высокой опасности инфекции, обусловленной грамотрицательными бактериями, у больных с глубокой нейтропенией возможно назначение комбинированной терапии уже на первом этапе лечения.

Эффективность начальной схемы лечения инфекции больных с нейтропенией определяется в течение 48–72 ч, при явном ухудшении состояния больного — в более короткие сроки. Нормализация температуры, уменьшение признаков интоксикации (нормализация артериального давления, частоты сердечных сокращений, нормализация самочувствия) на фоне отрицательных результатов гемокультуры могут расцениваться как полный эффект. В то же время даже при применении самых эффективных режимов комбинированной терапии или монаотерапии от 30 до 70% больных не отвечают на первоначальную схему антибактериальной терапии. Чаще всего это связано присутствием в качестве возбудителей метициллинрезистентных штаммов стафилококков, обладающих высокой устойчивостью к большинству бета-лактамов и аминогликозидов. В таких случаях лечение должно быть модифицировано с учетом вероятного возбудителя. При отсутствии результатов бактериологического исследования к проводимой схеме лечения добавляются гликопептиды (ванкомицин или тейкопланин), обладающие высокой активностью в отношении полирезистентной грамположительной флоры.

Другой причиной, требующей модифицирования первоначальной схемы лечения, является грибковая инфекция. Раннее эмпирическое назначение амфотерицина В (фунгизон) позволяет лик-

видировать признаки инфекции приблизительно у 10% пациентов, лихорадящих на фоне проведения терапии антибиотиками широкого спектра действия. В связи с высокой токсичностью амфотерицина для лечения грибковых поражений у больных в состоянии нейтропении используют азоловые препараты (флуконазол и итраконазол). Недостатком эмпирического использования флуконазола (дифлюкан) является отсутствие эффекта в отношении грибов рода *Aspergillus*. Кроме того, при широком использовании азоловых препаратов к ним развивается резистентность. Поэтому в настоящее время основным препаратом для эмпирической терапии грибковых инфекций остается амфотерицин В. Липосомальная форма препарата (амбизом), обладает меньшей токсичностью и большей эффективностью за счет возможности введения более высоких доз. Это особенно важно при лечении аспергиллезных инфекций, когда требуется вводить высокие дозы данного препарата.

Одной из причин неэффективности проводимой схемы терапии является инфекция, вызванная нетипичными бактериями (ноккардии, легионеллы, микоплазмы или актиномицеты), требующая замены антибактериальных препаратов.

Противовирусная терапия

Учитывая малую токсичность ацикловира, а также высокую распространенность инфекции, вызываемой вирусом простого и опоясывающего герпеса, данный противовирусный препарат может быть применен эмпирически. Обязательным является применение ацикловира в случае клинических проявлений герпетической инфекции и сохраняющейся лихорадки на фоне длительного проведения противобактериальной и противогрибковой терапии. Кроме этого препарат рекомендован при подозрении на герпетический энцефалит, когда немедленное начало терапии является жизненно необходимым. Дозировка ацикловира при внутривенном введении составляет 5 мг/кг 3 раза в день. При диссеминированном герпетическом поражении, помимо ацикловира, доза которого повышается до 7,5–10 мг/кг 3 раза в день, эффективно применение видарабина.

Другие препараты, обладающие активностью в отношении вирусов простого и опоясывающего герпеса, являются несколько бо-

лее токсичными, их применение оговорено специальными показаниями или резистентностью к ацикловиру.

Принципиальным показателем, определяющим длительность терапии антибиотиками, является содержание нейтрофилов в периферической крови. Антибиотикотерапия может быть прекращена у клинически стабильных больных, при нормальных показателях температуры тела в течение 5–7 дней, без клинико-лабораторных признаков инфекционного процесса. При прекращении терапии на фоне сохраняющейся нейтропении, она должна быть незамедлительно возобновлена при возврате лихорадки или других признаков инфекции. Введение антибиотиков целесообразно продолжать при сохранении глубокой нейтропении (менее $0,1 \times 10^9/\text{л}$), при признаках мукозита, при нестабильности основных жизненных показателей (АД, ЧСС, ЧД, сознание).

В случае подтверждения системной грибковой инфекции длительность курса применения амфотерицина В определяется выделенным патогеном и распространенностью инфекции. Если грибковая инфекция не подтверждена микробиологически, лечение может быть остановлено через 2 недели, если нет признаков инфекции при рентгеновском исследовании грудной клетки и компьютерной томографии органов брюшной полости. В это же время может быть прекращено введение других антибиотиков. Назначение амфотерицина В может быть прекращено через 4 дня при отсутствии клинических признаков инфекции.

Для пациентов, у которых сохраняется лихорадка после увеличения числа нейтрофилов больше $0,5 \times 10^9/\text{л}$ на фоне терапии антибиотиками широкого спектра действия, необходимо повторное исследование на предмет недиагностированной грибковой (хронический системный кандидоз, гистоплазмоз, трихоспориноз) или вирусной инфекции. Антибиотикотерапия может быть прекращена через 4–5 дней после восстановления содержания нейтрофилов крови более $0,5 \times 10^9/\text{л}$, если не найдены признаки инфекции даже при сохраняющейся лихорадке.

ОСЛОЖНЕНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Осложнения раннего посттрансплантационного периода

Осложнения раннего посттрансплантационного периода возникают в течение 100 дней после трансплантации.

1. Осложнения, связанные с токсичностью режима кондиционирования:

- панцитопения (количество гранулоцитов в крови менее 0,5–10⁹/л, тромбоцитопения, анемия);
- поражение желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, мукозит, эзофагит, гастродуоденит, диарея);
- интерстициальный пневмонит — осложнение, наиболее часто встречающееся при использовании ТОТ в качестве режима кондиционирования;
- поражение сердечно-сосудистой системы: гипертензия, гипотония, нарушения ритма сердца, эндокардит;
- поражение почек и мочеполовой системы: острая почечная недостаточность, геморрагический цистит (наиболее часто возникает после введения мегадоз ЦФ), гемолитико-уремический синдром;
- поражение кожи и алопеция;
- нейротоксичность;
- нарушение водно-электролитного баланса.

2. Инфекционные осложнения.

Развитие тяжелых иммунодефицитных состояний и гранулоцитопения после ТГСК приводят к появлению различных инфекций (бактериальные, вирусные, грибковые и т.д.), возникающих практически у всех больных на том или ином этапе в посттрансплантационном периоде (сепсис, пневмония, инфекции урогенитальной системы, желудочно-кишечного тракта, глаз и др.).

3. РТПХ.

Наиболее тяжелым осложнением и одной из основных причин смерти больных после аллогенной трансплантации является острая РТПХ, частота возникновения которой достигает 30% при родственных ТГСК и 80% при использовании неродственного совместимого донора. В основе патогенеза этого осложнения лежит отсутствие полной совместимости клеток донора и реципиента по HLA-сис-

теме и реакция зрелых донорских Т-лимфоцитов на клетки реципиента. В зависимости от интенсивности клинических проявлений различают I, II, III и IV степени острой РТПХ. Клинические стадии и степени острой РТПХ представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Классификация острой РТПХ (Glucksberg H. et al., 1974)

Степень РТПХ	Признаки поражения органов и систем организма		
	кожа	печень	желудочно-кишечный тракт
	макулопапулезная сыпь	билирубин, моль/л	диарея, мл/м ² /сут
I	<25%	34–51	300–580
II	25–50%	51–102	580–880
III	генерализованная эритродерма	102–255	>880
IV	буллезный эпидермолиз, десквамация эпителия	>255	сильная боль или илеус

Таблица 2

Клиническая степень острой РТПХ

Стадия РТПХ	Степень поражения органов и систем организма		
	кожа	печень	желудочно-кишечный тракт
I — легкая	1–2	0	0
II — умеренная	1–3	1	1
III — тяжелая	2–3	2–3	2–3
IV — угрожающая жизни	2–4	2–4	2–4

Острая РТПХ является лишь частью иммунного ответа на введение реципиенту донорских клеток, другая его составляющая — реакция «трансплантат против лейкоза», которая развивается одновременно с острой РТПХ. Поэтому развитие острой РТПХ I–II ст. желательно, поскольку либо не требует специального лечения, либо находится под медикаментозным контролем. В то же время появление острой РТПХ III и IV ст. крайне опасно, так как терапия этого состояния часто бывает безуспешной, смертность достигает 80–100 %.

4. Реакция отторжения (неприжизнения) трансплантата.

Эта реакция сопровождается развитием признаков аплазии КМ и периферической панцитопении и возникает у 1–3% больных после алло-ТГСК. Вероятность ее значительно (до 20%) возрастает у больных АА, особенно при признаках аллоиммунизации множественными гемотрансфузиями, полученными до трансплантации, а также у реципиентов КМ с предварительным «истощением» Т-лимфоцитов или от частично совместимого донора.

5. Веноокклюзионная болезнь печени.

Регистрируется у 10–60% больных после ТГСК. Синдром обусловлен повреждением эндотелиальных клеток печени, синусоидов и гепатоцитов высокими дозами цитостатических препаратов. Клинически проявляется гипербилирубинемией, быстрым увеличением размеров печени и массы тела, асцитом, болями в эпигастральной области и правой половине живота. При тяжелом течении болезни развиваются печеночная недостаточность (гепаторенальный синдром), тромбоцитопения, резистентная к переливанию тромбоцитарной массы, печеночная энцефалопатия. Первые признаки веноокклюзионной болезни печени могут появиться на 10–14-й день после ТГСК.

Осложнения позднего посттрансплантационного периода

Осложнения позднего посттрансплантационного периода возникают позднее 100 дней после ТГСК.

1. Хроническая РТПХ.

Развитие хронической РТПХ наблюдается в 33% случаев после аллогенной трансплантации от совместимого по HLA-системе донора и может возникнуть самостоятельно или быть продолжением острой РТПХ. Хроническая РТПХ проявляется склеротическими изменениями кожи, эритродермией, депигментацией или гиперпигментацией, алопецией, поражением желудочно-кишечного тракта, легких, печени, суставов, мышц, глаз, атрофией лимфоидных органов. Различают ограниченную и распространенную формы хронической РТПХ в зависимости от степени вовлечения в процесс кожи и печени.

2. Рецидивы основного заболевания.

Рецидивы злокачественного заболевания являются частой причиной смерти пациентов после ТГСК. При лечении рецидива гемобластозов после аллогенной трансплантации могут быть использованы инфузии донорских лимфоцитов или повторная ТГСК с применением немиелоаблативных режимов кондиционирования.

3. Нарушение функции репродуктивных органов и щитовидной железы.

В результате токсического воздействия высокодозной химиотерапии и/или лучевой терапии более чем у 90% женщин функция

яичников не восстанавливается. Сперматогенез полностью отсутствует после проведения лучевой терапии, но в дальнейшем его восстановление возможно. Нарушение функции щитовидной железы различной степени возникает у 40% больных после ТГСК.

4. Поражение глаз.

Наиболее часто поражение глаз после трансплантации проявляется в виде кератоконъюнктивитов. Возникновение катаракты диагностируется у 20% больных, имевших в режиме кондиционирования фракционированное ТОТ.

5. Развитие вторичных злокачественных новообразований.

Повышение риска развития вторичных злокачественных новообразований после ТГСК связано с использованием в режимах кондиционирования лучевой терапии, алкилирующих цитостатических препаратов, а также с длительным применением иммунодепрессантов. Вероятность развития вторичной опухоли более высока у пациентов, подвергшихся ТГСК в возрасте моложе 30 лет, и увеличивается с возрастом.

Материально-техническое обеспечение метода

Алкеран (мелфалан), Глаксо-Веллком (Великобритания).

Ацикловир, Глаксо-Веллком (Великобритания).

Ванкомицин, Тева (Израиль).

Вепезид, Бристол-Майерс Сквибб (Италия).

Ганцикловир, Хоффман-Ля Рош (Швейцария).

Граноцит, Рон Пуленк Рорер (Франция).

Лимфоглобулин, Пастер Мерье Конно (Франция).

Месна (уромитексан), USB (Бельгия).

Метотрексат, Ледерле (США).

Милеран (бусульфан), Глаксо-Веллком (Великобритания).

Нейпоген, Хоффман-Ля Рош (Швейцария).

Новантрон, Ледерле (США).

Ондансетрон (зофран), Глаксо-Веллком (Великобритания).

Сандимун (циклоспорин А), Новартис Фарма (Швейцария).

Солумедрол (метилпреднизолон).

Тимоглобулин, Пастер Мерье Конно (Франция).

Триметоприм-сульфаметоксазол, Глаксо-Веллком (Великобритания).

Флюконазол, Пфайзер (США).
Флудара (флюдарабин) Шеринг.
Фортум (цефтацидим), Глаксо-Веллком (Великобритания).
Фунгизон (амфотерицин В) Бристол-Майерс Сквибб (Италия).
Циклофосфан, Бристол-Майерс Сквибб (Италия).
Ципрофлоксацин, Байер (Германия).
Цитозар, Фармация-Апджон (США).
Антилейкоцитарные фильтры для трансфузий эритроцитов RC50KLE, RC100KLE, «PALL» (ФРГ).
Антилейкоцитарные фильтры для трансфузий тромбоцитов PL50KLE «PALL» (ФРГ).
Набор игл и шприцев для аспирации костного мозга, Henke-Sass (Германия).
Программный замораживатель «Planer BioMed» (Великобритания).
Сет для коллкции костномозговой взвеси с набором фильтров, Бакстер (Австрия).
Сет для афереза тромбоцитов, Фрезениус (Германия).
Сет для афереза тромбоцитов, Гамбро (Великобритания).
Сет для афереза СКПК, Фрезениус (Германия).
Сет для афереза СКПК, Гамбро (Великобритания).
Установка для гамма-облучения компонентов крови ABL 437C «Bio International» (Франция).
Сепаратор клеток крови «Cove Spectra», Гамбро (Великобритания).
Сепаратор клеток крови «Fresenius», Фрезениус (Германия).
Электролитная среда «Medium 199», Серва (Германия).

Примечание: все используемые лекарственные препараты и продукция медицинского назначения зарегистрированы в Республике Беларусь.