

На правах рукописи

**Рудакова
Татьяна Александровна**

**ФАКТОРЫ РИСКА, КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ГИПОФУНКЦИИ
АЛЛОГЕННОГО ТРАНСПЛАНТАТА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
У ВЗРОСЛЫХ**

14.01.21 – гематология и переливание крови

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Санкт-Петербург-2020

Работа выполнена на кафедре гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Кулагин Александр Дмитриевич – доктор медицинских наук, заместитель главного врача по гематологии, онкогематологии и ревматологии, профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии факультета последипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Новичкова Галина Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Богданов Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры постдипломного медицинского образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «__» _____ 2020 г. в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.090.01 при ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский Университет имени академика И.П. Павлова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8, тел. 8(812)3387104, e-mail: usovet@spb-gmu.ru) в зале заседаний Ученого Совета.

С работой можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации и на сайте: <http://1spb-gmu.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета
доктор медицинских наук, профессор



В.Н.Марченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В настоящее время аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) входит в стандарты лечения широкого спектра заболеваний [Абдулкадыров К.М., 2006, Афанасьев Б.В. и др., 2015, Румянцев А.Г. и др., 2003, Савченко В.Г. и др., 2007, Passweg J. и др., 2014, Duarte R. и др., 2019].

Особое место среди осложнений алло-ТГСК занимают различные нарушения функционирования трансплантата, такие как неприживление трансплантата, иммунное отторжение трансплантата клетками реципиента, вторичная недостаточность после начального приживления. Общая частота недостаточности трансплантата после алло-ТГСК по данным литературы варьирует от 1 % до 30 % [Champlin R.E. и др., 2000, Locatelli F. и др., 2014]. Наименее изучены посттрансплантационные цитопении различного генеза с сохранением донорского химеризма, которые часто объединяются терминами «плохая функция трансплантата» или «гипофункция трансплантата» (ГФТ) [Olsson и др., 2013, Locatelli и др., 2014]. На момент планирования данной диссертационной работы не существовало терминологии для четкого описания имеющихся клинических ситуаций, связанных с ГФТ [Gale R., 2015]. В последнее время гипофункцией трансплантата называют посттрансплантационные цитопении, возникающие после документированного приживления при условии сохраняющегося донорского химеризма и отсутствии признаков основного заболевания, однако другие критерии данного состояния остаются не до конца детализированными [Alchalby H. и др., 2016, Dyba J. и др., 2016, Valcarcel D. и др., 2019].

Сведения о частоте гипофункции трансплантата после приживления широко варьируют в связи с различиями в дизайне исследований и критериев диагностики данного состояния. Разноречивыми являются данные о клинической манифестации и характеристике данного осложнения. Исходы гипофункции трансплантата до настоящего времени были охарактеризованы лишь в отдельных публикациях [Rondon G. и др., 2015]. В настоящее время в литературе освещены различные подходы к лечению гипофункции трансплантата: отмена или усиление иммуносупрессивной терапии, ростовые факторы, клеточная терапия, повторная ТГСК [Лисуков И.А. и др., 2012, Кузьмина Л.А. и др., 2019, Klyuchnikov E. и др., 2014, Stasia A. и др., 2014, Marotta S. и др., 2019]. Однако оптимальный алгоритм терапевтической тактики остается предметом обсуждения.

Необходимость дальнейшего изучения проблемы, детальной клинической характеристики, идентификации ассоциированных факторов и поиска вариантов лечения тГФТ определила цель и задачи данной диссертационной работы.

Цель исследования. Изучить особенности клинических проявлений, факторы риска и исходы при различных вариантах тяжелой гипофункции трансплантата (тГФТ) после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и разработать тактику терапии с включением агонистов рецептора тромбопоэтина.

Задачи исследования:

1. Оценить с применением строгих критериев кумулятивную частоту развития тГФТ у взрослых пациентов после алло-ТГСК.
2. Охарактеризовать спектр клинических проявлений и исходы тГФТ.
3. Оценить роль тГФТ в частоте трансплантационной летальности и долгосрочной общей выживаемости пациентов после алло-ТГСК.
4. Выявить предтрансплантационные и посттрансплантационные факторы риска развития тГФТ.
5. Ретроспективно оценить эффективность использованных методов лечения тГФТ.
6. Проспективно изучить эффективность терапии тГФТ агонистами рецептора тромбопоэтина.

Практическая значимость исследования

Практическая значимость диссертации заключается в разработке и внедрении в клиническую практику алгоритма прогнозирования, дифференциальной диагностики и лечения тяжелой гипофункции трансплантата с целью повышения эффективности алло-ТГСК. Детально изучен вклад различных факторов до и после алло-ТГСК в возникновение тГФТ, что позволяет выделить группы риска и в дальнейшем разработать и оптимизировать терапевтическую тактику в этих группах.

Предложенный алгоритм направлен на более активную тактику терапии, в особенности у пациентов, относящихся к неблагоприятной группе, что позволяет достигать улучшения общей выживаемости, а также снижения летальности, ассоциированной с алло-ТГСК.

Научная новизна исследования

Впервые в крупной репрезентативной когорте взрослых пациентов с длительным сроком наблюдения проанализирована частота тяжелой гипофункции трансплантата после алло-ТГСК, охарактеризованы структура и исходы тяжелой гипофункции трансплантата, влияние тяжелой гипофункции трансплантата на основные параметры эффективности алло-ТГСК.

Впервые произведена оценка влияния различных предтрансплантационных характеристик реципиента и донора, а также посттрансплантационных состояний на частоту тГФТ, в результате чего выявлены прогностически значимые факторы.

Впервые комплексно проанализирована терапевтическая тактика в реальной клинической практике при тГФТ. Впервые продемонстрировано влияние скорости ответа на проводимую терапию на разрешение данного осложнения.

Получены оригинальные данные об эффективности использования агонистов рецептора тромбопоэтина (рТПО) в посттрансплантационном периоде. В том числе впервые показана эффективность агонистов рТПО у пациентов с оРТПХ III-IV степени.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Тяжелая ГФТ является редким осложнением после аллогенной ТГСК и имеет неблагоприятный прогноз. Отторжение трансплантата не является наиболее частым исходом тГФТ. Ведущей причиной летальности при тГФТ являются инфекционные осложнения.
2. Миелопролиферативные заболевания, гаплоидентичный донор, вирусные инфекции и сепсис являются независимыми факторами развития тГФТ.
3. Персистенция тГФТ более трех недель на фоне проводимой терапии ухудшает общую выживаемость после алло-ТГСК. Раннее принятие решения о повторной ТГСК с или без режима кондиционирования может улучшить выживаемость в данной группе пациентов.
4. Агонисты рецептора ТПО являются эффективным и безопасным методом терапии тГФТ. Учитывая многофакторную природу тГФТ, применение агонистов рецептора ТПО возможно на раннем этапе терапии независимо от этиологии и патогенеза тГФТ.

Внедрение результатов исследования.

Основные положения диссертации внедрены в трансплантационную практику, научно-исследовательскую и образовательную деятельность НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделения гематологии Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области "Свердловская областная клиническая больница №1", онкогематологического отделения №2 Государственного бюджетного учреждения

здравоохранения Ленинградская областная клиническая больница, отделения гематологии и трансплантации костного мозга Клиники иммунопатологии ФГБНУ "НИИ фундаментальной и клинической иммунологии", г. Новосибирск. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК. Подготовленная база данных «Факторы риска недостаточности трансплантата у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток» получила государственную регистрацию (свидетельство №2016620723 от 02.06.2016).

Апробация и реализация работы

Основные теоретические данные и практические результаты диссертации представлены в постерных докладах на 44, 45 ежегодных симпозиумах Европейской группы по трансплантации крови и костного мозга (Лиссабон, 2018; Франкфурт-на-Майне, 2019), X, XI, XII международных симпозиумах, посвященных памяти Р.М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей и взрослых» (Санкт-Петербург, 2016-2018), в виде устных докладов на IV Конгрессе гематологов России (Москва, 2018) и XIII международном симпозиуме, посвященном памяти Р.М. Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей и взрослых» (Санкт-Петербург, 2019).

Структура работы

Работа выполнена на базе отделения трансплантации костного мозга для взрослых клиники НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ПСПбГМУ им. ак. И.П.Павлова на основании анализа медицинской документации и биоматериала пациентов (директор – засл. врач РФ, профессор Афанасьев Б. В.). Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы характеристика пациентов и методы исследований, 3 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 137 страницах машинописного текста. Текст иллюстрирован 10 таблицами, 19 рисунками. Библиографический указатель включает 232 литературных источников, из них – 26 отечественных и 206 зарубежных источника.

Автором лично выполнен набор, проведены анализ и статистическая обработка данных 710 пациентов со злокачественными и незлокачественными заболеваниями системы крови после алло-ТГСК. Были освоены все методы, использованные при выполнении диссертационной работы. Автор принимала активное участие в обсуждении и выборе тактики терапии при гипофункции трансплантата у большинства больных, включенных в исследование.

Методология и методы исследования

В работе использованы общенаучные методы: анализ (проспективный и ретроспективный), синтез (сравнительно-сопоставительный), научно-научные методы (лабораторный, инструментальный), методы математической статистики.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе клиники НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова». Всего была проанализировано 710 больных с документированным приживлением трансплантата старше 18 лет, перенесших алло-ТГСК в период с 2008 по 2017 годы. Из данной когорты, основываясь на строгих критериях определения тяжелой гипофункции трансплантата, было выделено 103 пациента с этим осложнением.

Исследование функционирования трансплантата включало в себя ретроспективную (2008-2014 годы) и проспективную (2015-2017 годы) части. Медиана периода наблюдения от

момента алло-ТГСК составил 15 месяцев (16 дней - 8 лет). Медиана возраста на момент проведения трансплантации составила 31 (18-70) год, число пациентов мужского и женского пола – 391 (55%) и 319 (45%) соответственно. Характеристика пациентов по диагнозам представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Характеристика пациентов по диагнозам

Диагнозы	Количество пациентов, n (%)
Синдромы костномозговой недостаточности Идиопатическая апластическая анемия	25 (3,5)
Острые лейкозы Острый миелоидный лейкоз Острый лимфобластный лейкоз	318 (45) 182 (25,6)
Миелопролиферативные заболевания и МДС Хронический миелоидный лейкоз Миелодиспластический синдром Первичный миелофиброз Вторичный миелофиброз МДС/МПЗ Хронический миеломоноцитарный лейкоз	59 (8,3) 35 (4,9) 10 (1,4) 5 (0,7) 3 (0,4) 3 (0,4)
Лимфопролиферативные заболевания Лимфома Ходжкина Неходжкинские лимфомы Хронический лимфолейкоз	39 (5,5) 18 (2,5) 13 (1,8)

Диагнозы устанавливались на основании клинических рекомендаций для каждой из нозологий (Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению хронического миелолейкоза (Москва, 2013 г.); Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых миелоидных лейкозов у взрослых (Москва, 2014 г.); Клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний у взрослых (Москва, 2014 г.); Клинические рекомендации по лечению апластической анемии (Москва, 2014 г.); Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению миелодиспластических синдромов взрослых (Москва, 2015 г.); Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых лимфобластных лейкозов у взрослых (Москва, 2018 г.).

С целью контроля ремиссии заболевания применяли морфологические, молекулярно-биологические, цитогенетические и цитофлуориметрические методы исследования в соответствующих лабораториях клиники НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой (рук. лаб. Щеголева Т. С., зав. лаб. к.м.н. Гиндина Т. Л., зав. лаб. Бабенко Е. В.).

Распределение пациентов по виду алло-ТГСК было следующим: родственные алло-ТГСК выполнены – 235 пациентов (33%), неродственные алло-ТГСК – 475 пациентов (67%). При этом родственный полностью HLA-совместимого донор имелся у 202 пациентов (28%), а у 33 пациентов (5%) алло-ТГСК была проведена от родственного частично HLA-совместимого (гаплоидентичного) донора. В качестве гаплоидентичного донора выступали не только родители, но и другие гаплоидентичные родственники. От неродственных полностью HLA-совместимых доноров выполнено 375 (53%) алло-ТГСК, от частично HLA-совместимых доноров – 100 (14%). Медиана возраста доноров составила 30 (5-63) лет. Другие характеристики доноров обобщены в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика доноров

Параметры	Количество (n)
Возраст донора, медианы (диапазон)	30 (5-63)
Совместимость по полу	
Женщина → женщина	125
Женщина → мужчина	141
Мужчина → мужчина	249
Мужчина → женщина	195
Совместимость по АВО	
Совместимость	320
Большая	149
Малая	160
Смешанная	81
Беременность донора	
Не было (включая мужчин)	633
Одна и более	77

В качестве источника ГСК были использованы костный мозг, периферическая кровь и их сочетание у 284 (40%), 405 (57%) и 21 пациента (3%) соответственно.

Качество трансплантата оценивалось по общему содержанию ядродержащих клеток, а также количеству CD34+ и CD3+ клеток. Клеточность трансплантата по содержанию CD34+ при выполнении алло-ТГСК от родственного донора составила: при использовании КМ – $0,3-9,2 \times 10^6/\text{кг}$ веса реципиента (медиана $2,9 \times 10^6/\text{кг}$), СКПК – $0,9-8,3 \times 10^6/\text{кг}$ веса (медиана – $5,2 \times 10^6/\text{кг}$), комбинация КМ+СКПК – $1,9-5,9 \times 10^6/\text{кг}$ веса (медиана – $3,5 \times 10^6/\text{кг}$). При неродственной алло-ТГСК клеточность трансплантата была следующей: КМ – $1,0-11 \times 10^6/\text{кг}$ веса реципиента (медиана – $3,5 \times 10^6/\text{кг}$), СКПК – $1,1-12 \times 10^6/\text{кг}$ веса (медиана – $6,0 \times 10^6/\text{кг}$).

Генотипирование локусов HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 и HLA-DQB1 реципиента и членов его семьи осуществляли в лаборатории тканевого типирования клиники НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой, зав. лаб. - Иванова Н. Е.). Поиск неродственных доноров осуществляли в Международном регистре доноров (руководитель – Алянский А.Л.).

Диагностика тяжелой гипофункции трансплантата осуществлялась согласно следующим критериям: 1) цитопения как минимум в 2/3 линий: нейтрофилы $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты $< 20 \times 10^9/\text{л}$ или гемоглобин $< 70 \text{ г/л}$ в любое время после достижения приживления; 2) полный или стабильный смешанный донорский химеризм $> 90 \%$; 3) отсутствие рецидива заболевания, отторжения трансплантата и острой РТПХ III-IV ст.

Персистирующей гипофункцией трансплантата считалось медленное или неполное восстановление гемопоэза после 28-го дня после алло-ТГСК. Вновь возникшей гипофункцией трансплантата считалась цитопения, возникшая после документированного приживления и периода нормального функционирования трансплантата [Kong 2016].

Использованы критерии приживления трансплантата гемопоэтических стволовых клеток, принятые Европейской Группой Трансплантации Костного Мозга (EBMT) и Центром Международного Изучения крови и костного мозга (СІВМТR). Днем приживления трансплантата считался первый из трех последовательных дней достижения и сохранения в периферической крови абсолютного числа нейтрофилов (АЧН) $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$ при условии отсутствия стимуляции кроветворения с помощью ростковых факторов и достижения полного или смешанного донорского химеризма.

Неприживлением трансплантата считалось отсутствие восстановления нейтрофильного ростка, менее 5% донорских клеток при определении химеризма, а также реконституция собственного кроветворения пациента.

Ремиссионный статус перед и после алло-ТГСК оценивался для острых лейкозов в соответствии с критериями LeukemiaNet, Международной Рабочей Группы по изучению и лечению миелопролиферативных заболеваний и Европейской LeukemiaNet для ПМФ и МДС/МПЗ, Европейской LeukemiaNet 2013 и NCCN 2018 для хронического миелолейкоза, RECIL 2017 для лимфом. Оценка статуса ремиссии с выполнением цитологического, цитогенетического, молекулярно-биологического, иммунофлюорисцентного исследований проводилась всем пациентам до начала режима кондиционирования, после алло-ТГСК на Д +30, +60, +100, +180, +365, +548, +730 или при появлении подозрения на развитие рецидива заболевания.

Донорский химеризм после алло-ТГСК выявляли с помощью метода фрагментного анализа аллелей высокополиморфных маркеров (STR) в лаборатории трансплантологии и молекулярной гематологии (зав. лабораторией к.м.н. Бархатов И.М.). Донорский химеризм оценивался как «полный» при достижении уровня >95%, стабильным смешанным химеризм считался в диапазоне от 90% до 95%. Химеризм оценивался в стандартные сроки после ТГСК (Д+30, Д+60, Д+100, Д+180, Д+365), а также при развитии гипофункции трансплантата, подозрении на рецидив основного заболевания.

Восстановление гемопоэза после тГФТ или полный ответ на терапию тГФТ оценивался следующим образом: полный или стабильный смешанный донорский химеризм >90%, отсутствие признаков основного заболевания, уровень тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$, АЧН $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$, и уровень гемоглобина ≥ 100 г/л.

Частичным ответом на терапию или разрешением тГФТ считалось достижение как минимум двух из следующих параметров: уровень тромбоцитов $> 20 \times 10^9/\text{л}$, АЧН $\geq 0,5 \times 10^9/\text{л}$ и/или уровень гемоглобина > 70 г/л при сохранении полного или стабильного смешанного донорского химеризма >90% и отсутствии признаков основного заболевания.

Отторжение документировалось при снижении донорского химеризма менее 20% на фоне аплазии, при персистенции панцитопении или восстановлении собственного гемопоэза пациента.

Сепсис и тяжелый сепсис, синдром синусоидальной обструкции/веноокклюзионную болезнь (ССО/ВОБ) и посттрансплантационную тромботическую микроангиопатию (ТМА) диагностировали с учетом международных рекомендаций. Классификация тяжести кровотечений производилась по Н.А. Яицкому.

Применение агонистов рецепторов тромбопоэтина после алло-ТГСК

В исследование включены 31 взрослых пациентов, получившие терапию агонистами рТПО по поводу цитопении в посттрансплантационном периоде. Для лечения были использованы: ромиплостим (Nplate®, Amgen) с медианой дозы 5 мкг/кг/неделю (3-8), n=17, и элтромбопаг (Revolade®, Novartis) с медианой дозы 50 мг/сутки (50-150), n=14. Препараты агонистов рТПО применялись как в монорежиме (ромиплостим, n=14; элтромбопаг, n=8), так и в дополнение к другим методам, принятым в центре на момент исследования (ритуксимаб, n=5; трансфузия донорских лимфоцитов, n=3; трансфузия CD34+ клеток без режима кондиционирования, n=1).

Критерии включения отличались от критериев определения тГФТ, а именно в данную группу вошли пациенты: 1) с наличием тромбоцитопении $< 20 \times 10^9/\text{л}$ без или в сочетании с критериальной цитопенией в других линиях; 2) с полным или стабильным смешанным донорским химеризмом $\geq 90\%$; 3) отсутствием рецидива заболевания и отторжения трансплантата. Наличие тяжелой РТПХ не являлось критерием исключения в данном исследовании.

Медиана возраста составила 22 (18-56) года, Распределение по полу было примерно равным: 15 мужчин, 16 женщин. Остальные характеристики больных, получавших лечение агонистами рТПО, приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика пациентов, получивших терапию агонистами рТПО

Параметр	Количество пациентов, n (%)
Диагноз	
Идиопатическая апластическая анемия	5 (16)
Острый миелоидный лейкоз	10 (32)
Острый лимфобластный лейкоз	7 (23)
Хронический миелоидный лейкоз	1 (3)
Миелодиспластический синдром	3 (10)
МДС/МПЗ	4 (13)
Неходжкинские лимфомы	1 (3)
Тип донора	
Родственный HLA-совместимый	6 (19)
Неродственный HLA-совместимый	16 (52)
Гаплоидентичный	9 (29)
Режим кондиционирования	
МАК	12 (39)
РИК	19 (61)
Режим профилактики РТПХ	
Посттрансплантационный ЦФ +/- ЦсА/такролимус	19 (61)
АТГ-содержащие	8 (26)
Другие	4 (13)

Статистическая обработка результатов исследования

Описательная характеристика когорты включала число случаев и пропорции для дискретных факторов, медианы и диапазон значения – для непрерывных величин. Различия между анализируемыми группами оценивались с помощью точного теста Фишера, хи-квадрат Пирсона и U теста Манн-Уитни для категориальных и количественных характеристик соответственно. Для установления пороговых значений клеточности трансплантата, уровня ферритина до ТГСК применяли ROC-анализ.

Кумулятивная частота тГФТ рассчитывалась с учетом конкурирующих рисков (смерть, рецидив, тяжелая оРТПХ) от даты приживления до даты наступления критериально значимой цитопении, последнего контакта, рецидива или тяжелой РТПХ. Кумулятивная частота разрешения тГФТ рассчитывалась от даты дебюта критериальной цитопении до даты восстановления показателей гемопоэза выше критериальных, рецидива или смерти пациента. Различия кумулятивных частот в группах оценивали с помощью теста Грэя.

Трансплантационная летальность без рецидива (ТЛ) оценивалась как смерть от независимых от основного заболевания причин, рецидивировавшие пациенты цензурировались на момент рецидива. Общая выживаемость пациентов (ОВ) оценивалась по методу Каплана-Майера от момента проведения алло-ТГСК до даты последнего контакта или даты смерти. Сравнение выживаемости проводилось при помощи log-rank теста. Анализ независимых факторов риска тГФТ был проведен в регрессионной модели пропорциональных рисков для конкурирующих событий с помощью теста Вальда и пошагового регрессионного анализа с вычислением отношения рисков (ОР) и 95% доверительных интервалов (95% ДИ). В многофакторный анализ включались параметры со значением $p < 0,05$ в однофакторном анализе.

Тестирование альтернативной гипотезы было двусторонним, статистически значимым при значении $p < 0,05$. Статистический анализ выполнен в программах SAS, версия 9.3 (Cary, NC, США), NCSS 2007 (Kaysville, UT, США), свободной статистической среде EZR, версия 2.15.2 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тяжелая ГФТ развилась у 103 (14,5%) пациентов. Кумулятивная частота тГФТ с учетом конкурирующих рисков составила 11% (95% ДИ, 9-14), 14% (95% ДИ, 12-17) и 15% (95% ДИ, 12-18) на 100, 365 и 730 день соответственно (рисунок 1).

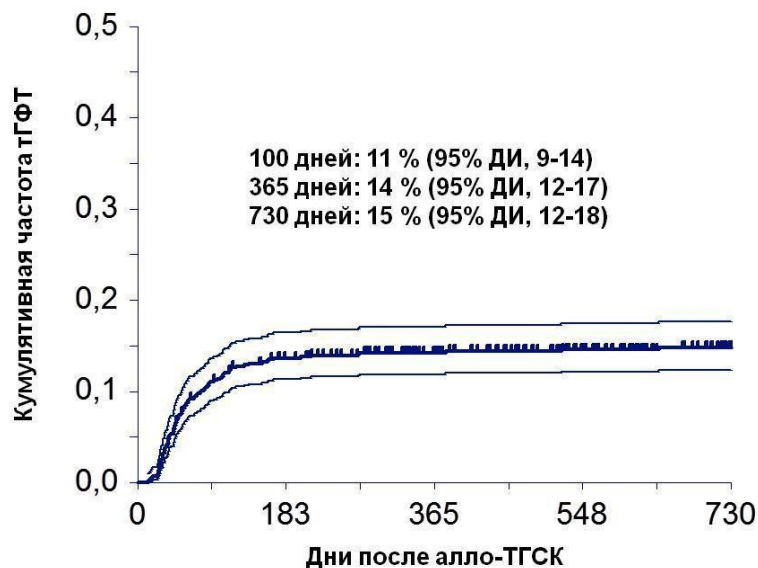


Рисунок 1 – Кумулятивная частота тяжелой гипофункции трансплантата

Медиана времени между алло-ТГСК и дебютом тГФТ составила 50 (13-641) дней. После 365 дня диагностировано только 3 случая тГФТ, причиной которой послужила манифестная цитомегаловирусная инфекция, закончившаяся летальным исходом. Медиана наблюдения после развития тГФТ составила 360 (6-2134) дней.

Клиническая характеристика тяжелой гипофункции трансплантата

Группа пациентов с тГФТ не отличалась от группы сравнения по полу, возрасту на момент ТГСК, медиане времени от постановки диагноза до проведения ТГСК, режимам кондиционирования, клеточности трансплантата (таблица 4). Медиана достижения уровня АЧН более $0,5 \times 10^9/\text{л}$ у пациентов с тГФТ составила 20 дней (9-44), что не отличалось от таковой у пациентов с нормальной функцией – 19 (10-42) дней, $p=0,154$.

Однако были выявлены различия, касающиеся спектра основных диагнозов, статуса заболевания на момент ТГСК и типа донора, использованного для алло-ТГСК. При анализе группы с тГФТ большую долю занимали миелопролиферативные заболевания и МДС, ТГСК в активной фазе заболевания (в случае острых лейкозов), пациенты с более высоким уровнем ферритина на момент ТГСК, гаплоидентичные ТГСК и ТГСК с комбинацией КМ и СКПК в качестве источника трансплантата.

В 81 случаях была диагностирована вновь возникшая тГФТ, дебют которой состоялся как минимум через 30 дней после ТГСК. Медиана длительности тГФТ в таком случае составила 39 дней (6-257). В 22 случаях имело место замедленное восстановление гемопоэза (персистирующая тГФТ), медиана длительности тГФТ при этом была 33 дней (8-140).

При оценке глубины цитопении медиана АЧН ставила $0,3 \times 10^6/\text{л}$ (0,1-1,9), медиана уровня тромбоцитов – 8 (1-43), медиана уровня гемоглобина – 61 г/л (33-98).

Таблица 4 – Сравнительная характеристика пациентов с наличием и без тГФТ

Параметр	тГФТ (+) (n=103)	тГФТ (-) (n=607)	p
Возраст, лет, медиана (диапазон)	31 (18-67)	31 (18-70)	0,949
Время до ТГСК, дни, медиана (диапазон)	450 (8-6 695)	439 (17-7 714)	0,244
Пол, n (%)			0,309
Мужской	59	332	
Женский	44	275	
Диагноз, n (%)			<0,001
ТАА	3 (3)	22(4)	
ОМЛ	45 (44)	273(45)	
ОЛЛ	25 (24)	157(26)	
ХМЛ	4 (4)	55(9)	
МДС	11 (10)	24(4)	
ПМФ и ВМФ	6 (6)	8(1)	
МДС/МПЗ	1 (1)	3(0,5)	
ХММЛ	1 (1)	2(0,5)	
ЛХ	3 (3)	36(6)	
НХЛ	3 (3)	15(2,5)	
ХЛЛ	1 (1)	12(1,5)	
Статус на момент ТГСК при ОЛ, n (%)	n=70	n=430	0,049
Ремиссия	49 (70)	343(80)	
Вне ремиссии	21 (30)	87(20)	
Ферритин, мкг/л, медиана (диапазон) (анализ 351 случая)	929 (68-11470)	574 (3-10 500)	0,002
Донор, n (%)			<0,001
HLA-совместимый сиблинг	20 (18)	182(30)	
Аллогенный неродственный	71 (70)	404(67)	
Гаплоидентичный	12 (12)	21(3)	
АВО-совместимость, n (%) (анализ 693 случаев)			0,04
Совместимые по АВО	38 (37)	277(46)	
Малая, большая, комбинированная несовместимость	65 (63)	313(52)	
Источник трансплантата, n (%)			0,04
КМ	38 (37)	245(40)	
СКПК	58 (57)	348(57)	
КМ и СКПК	7 (7)	14(3)	
Костный мозг			
Количество NC×10 ⁸ /кг	6,25 (1,2-14)	5,5 (0,8-23)	0,436
Количество CD34+×10 ⁶ /кг	3,0 (1,2-10)	3,2 (0,3-11)	0,260
Количество CD3+×10 ⁷ /кг	2,85 (0,5-16)	2,9 (0,4-71)	0,947
СКПК			
Количество NC×10 ⁸ /кг	6,1 (2,0-22)	5,9 (1,8-25)	0,711
Количество CD34+×10 ⁶ /кг	6,0 (1,5-17)	6,0 (0,9-12)	0,548
Количество CD3+×10 ⁷ /кг	23 (2,4-66)	20(1,2-81)	0,116
КМ и СКПК			
Количество NC×10 ⁸ /кг	3,6 (2,0-8,6)	6,2 (4,0-18)	0,240
Количество CD34+×10 ⁶ /кг	5,1 (2,8-7,0)	5,0 (2,9-10)	0,970
Количество CD3+×10 ⁷ /кг	3,2 (2,4-66)	10 (1,8-5,0)	0,185
Кондиционирование, n (%)			0,441
Миелоаблативное	30 (29)	185 (30)	
Со сниженной интенсивностью доз	73 (71)	422 (70)	

На момент установления диагноза тГФТ 42 (41%) пациента имели трехростковую цитопению (АЧН $<0,5 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты $<20 \times 10^9/\text{л}$ или гемоглобин $<70 \text{ г/л}$). У остальных 61 (59%) больных имела место цитопения с вовлечением двух ростков гемопоэза: тромбоцитопения и анемия ($n=30$, 29%), тромбоцитопения и нейтропения ($n=25$, 24%), а также сочетание нейтропении и анемии ($n=6$, 6%).

При анализе связи между количеством вовлеченных линий гемопоэза и характеристиками ТГСК прослеживалась тенденция к преобладанию трехлинейной цитопенией при миелоаблативных режимах кондиционирования: 47% против 27% соответственно, $p=0,068$.

Тяжелая ГФТ была ассоциирована с развитием инфекционных осложнений в 21 (20%) случаях. Тяжелые кровотечения ≥ 3 степени в период тГФТ развились у двух больных (2%).

Специальный анализ был выполнен для оценки соотношения общей выживаемости и доли пациентов с тГФТ среди выживших к году после ТГСК (рисунок 2).

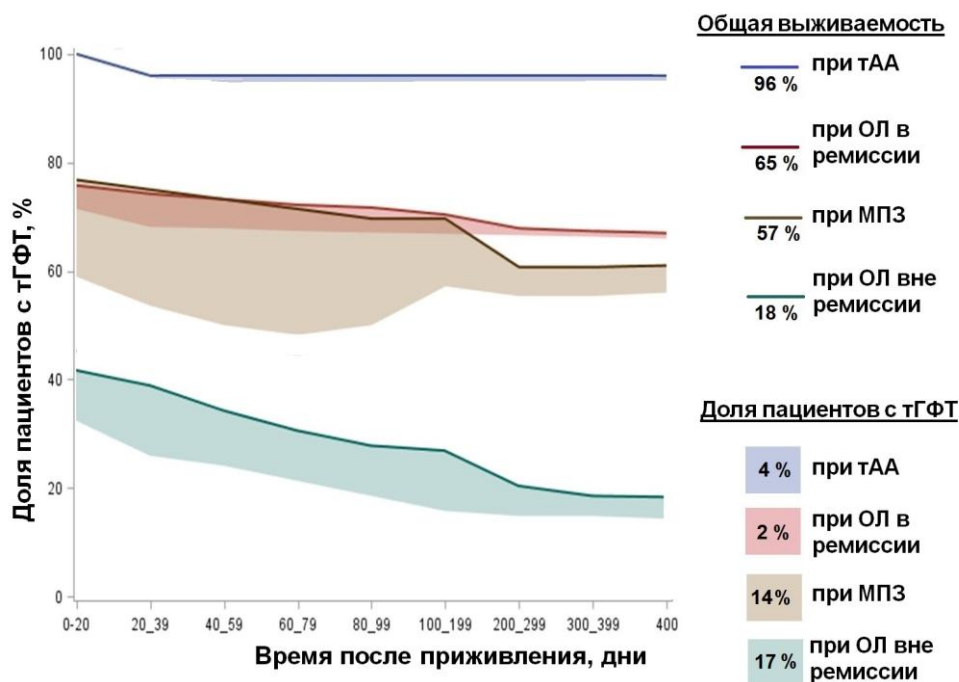


Рисунок 2 – Соотношение общей выживаемости и доли пациентов с тГФТ в течение года после алло-ТГСК

Самая низкая выживаемость и относительно высокий процент тГФТ были выявлены среди пациентов с ОЛ, трансплантированных вне ремиссии (18 % и 17 % соответственно), выживаемость при МПЗ была сравнима с ОЛ в ремиссии, несмотря на сохраняющуюся большую долю пациентов с тГФТ. При ТАА доля пациентов с тГФТ была минимальной, а выживаемость наиболее высокой.

Исходы тяжелой гипофункции трансплантата

В исследовании были выделены 4 варианта исхода тяжелой ГФТ: разрешение гипофункции, в том числе с критериальным восстановлением нормального гемопоэза, отторжение трансплантата, рецидив основного заболевания, смерть пациента.

В 55 (53%) случаях было документировано разрешение тГФТ, из них 3 – после повторной ТГСК и 9 – после введения ГСК с или без иммуносупрессивной терапии. В группе разрешившейся тГФТ медиана АЧН составила $2,5 \times 10^9/\text{л}$ (1,1-8,1), гемоглобина – 120 г/л (77-180), уровня тромбоцитов – $129 \times 10^9/\text{л}$ (25-312). В остальных случаях имелись

неблагоприятные исходы тГФТ: смерть (n=28), рецидив (n=14, медиана 73 дня от дебюта тГФТ), отторжение трансплантата (n=6, медиана 52 дня от дебюта тГФТ).

Подавляющее число летальных исходов тГФТ были связаны с тяжелыми инфекционными осложнениями – 25 (89%). Только в 1 (4%) случае причиной смерти стало кровотечение. В 2 (7%) случаях данные о причине смерти остались неуточненными.

Сроки возникновения тГФТ в меньшей степени влияли на исход, чем количество вовлеченных ростков. Рецидивы чаще имели место при вновь возникшей тГФТ, поскольку сверхранные рецидивы или прогрессия злокачественного заболевания после алло-ТГСК служили критерием исключения из исследования. Кумулятивная частота разрешения ранней тГФТ была выше по сравнению с отсроченной тГФТ: 74% против 51% (p=0,02).

Частота разрешения тГФТ была выше при двухростковой цитопении по сравнению с трехростковой: 64% против 29%, p<0,001. Напротив, отторжение трансплантата и летальные исходы развивались чаще при вовлечении трех ростков: 12% против 2% (p=0,04) и 45% против 15% (p=0,01) соответственно. Частота рецидивов не зависела от количества вовлеченных ростков: 19% против 14% (p=0,332).

Срезом на Д+30, Д+100 и Д+365 были оценены данные клинического анализа крови, миелограммы, донорского химеризма в группе МДС/МПЗ (n=18) с предполагаемым наиболее высоким риском тГФТ в сравнении с ТАА (n=25). Медиана времени приживления при ТАА и МДС/МПЗ составила 20 (14-28) и 27 (16-137) дней соответственно. Доля случаев, соответствовавших критериям тГФТ, в группе МДС/МПЗ была выше, чем в группе ТАА: 7 (39%) против 3 (12%) (p=0,046). При этом в 2 случаях у пациентов с ТАА для лечения тГФТ использовалась повторная трансфузия ГСК без режима кондиционирования. У пациентов с МДС/МПЗ применялись агонисты рТПО (n=3) и трансфузии донорских лимфоцитов (ТДЛ) (n=1). В группе с МДС/МПЗ продемонстрировано замедленное приживление, большая доля случаев тГФТ, а также более медленная динамика восстановления тромбоцитов. Однако к Д+365 показатели гемопоэза были сравнимы в обеих группах.

Трансплантационная летальность и общая выживаемость при тяжелой гипофункции трансплантата

Медиана наблюдения после алло-ТГСК составила 464 дня (12-1899), медиана наблюдения после развития тГФТ – 300 дней (6-1879). Развитие тГФТ ассоциировалось с значительным повышением 2-х летней ТЛ: 40% (95% ДИ, 29-50) против 25% (95% ДИ, 21-28) при отсутствии тГФТ, p=0,007 (рисунок 3).

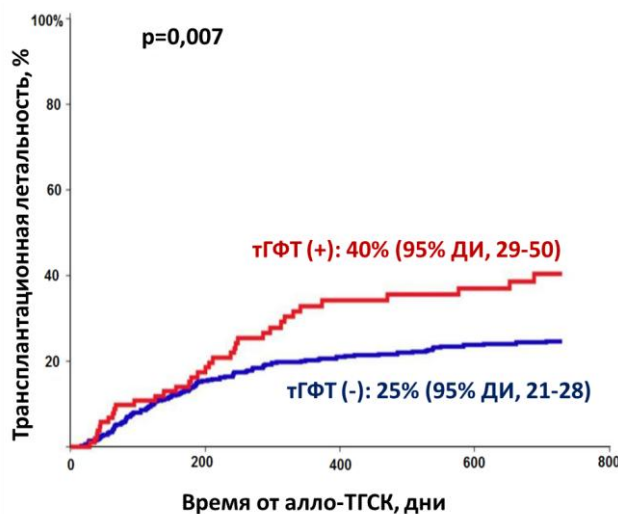


Рисунок 3 – Двухлетняя трансплантационная летальность в зависимости наличия тГФТ

В связи с высокой гетерогенностью общей когорты оценка двухлетней общей выживаемости в однофакторном анализе проводилась методом Каплана-Майера в подгруппах больных с разными диагнозами. В самой большой группе больных с ОЛ, трансплантированных в ремиссии, ОВ оказалась в 1.5 раза ниже при развитии тГФТ: 45% (95% ДИ, 30-56) против 67% (95% ДИ, 61-72) без тГФТ, $p=0,003$.

Факторы риска тяжелой ГФТ и сопутствующие состояния

Среди параметров, характеризующих исследуемую когорту, были выделены базовые факторы, определяемые до ТГСК: 1) связанные с пациентом (пол, возраст, диагноз, статус заболевания, наличие перегрузки железом), связанные с донором (пол, возраст, НЛА-совместимость, родство с пациентом, группа крови, беременность), 2) факторы, связанные с трансплантацией (режим кондиционирования, источник трансплантата, клеточность трансплантата, профилактика реакции «трансплантат-против-хозяина»).

Предполагаемые причины тГФТ у каждого пациента были классифицированы на основании клинической ассоциации посттрансплантационных осложнений с тГФТ за последние 4 недели в сочетании с лабораторно-инструментальным подкреплением в возможных случаях.

В большинстве случаев это были инфекционные эпизоды ($n=70$, 68%) с преобладанием вирусной реактивации ($n=60$, 58%). Документированный тяжелый сепсис имел место у 10 пациентов (9,7%). В 8 случаях (7,7%) ведущей потенциальной причиной тГФТ была ПККА без ($n=5$) или в сочетании с вирусной инфекцией ($n=3$). У 6 пациентов (5,8%) имела место посттрансплантационная ТМА/ВОБ, из них в 1 случае в сочетании с вирусной инфекцией. Иммунные цитопении, соответствующие критериям тГФТ за исключением ПККА наблюдались в 5 случаях (4,8%). У одного пациента тГФТ развилась на фоне оРТПХ 2 степени. В 25 случаях (24%) имела место комбинация нескольких состояний.

Для анализа посттрансплантационных факторов риска влияющих на функцию трансплантата после ТГСК, были выделены эпизоды вирусных инфекций, оРТПХ 1-2 степени, тяжелого сепсиса и эндотелиопатий.

Однофакторный анализ потенциальных предикторов и посттрансплантационных факторов, ассоциированных с тяжелой ГФТ

С учетом наличия конкурирующих событий и зависимости тГФТ от времени после ТГСК анализ факторов риска был проведен с помощью оценки кумулятивной частоты. В однофакторный анализ были включены характеристики, касающиеся пациента, трансплантации и посттрансплантационные факторы.

Кумулятивная частота тГФТ не зависела от возраста и пола пациента и донора, серологического статуса по вирусным инфекциям у донора, клеточности трансплантата и интенсивности режима кондиционирования.

В однофакторном анализе наибольшая кумулятивная частота тГФТ наблюдалась у пациентов с МДС, МДС/МПЗ и ПМФ. Между нозологическими группами внутри группы МПЗ не было статистически значимой разницы в частоте тГФТ. Таким образом с учетом гетерогенности анализируемой когорты и показаний к алло-ТГСК, а также необходимости базовой стратификации были выделены и в дальнейшем анализированы две группы пациентов, различающихся по кумулятивной частоте развития тГФТ: 1) ТАА, острые лейкозы, ХМЛ, лимфомы и 2) МДС, МДС/МПЗ, ПМФ, с 2-летней кумулятивной частотой 13% (95% ДИ, 11-16) против 34% (95% ДИ, 22-46) соответственно ($p<0,001$) (рисунок 4а).

Статус на момент алло-ТГСК анализировался для злокачественных заболеваний. Были выделены две группы: 1) пациенты в ремиссии и 2) пациенты с активным заболеванием, с кумулятивной частотой тГФТ 12% (95% ДИ, 9-15) против 21% (95% ДИ, 16-27) соответственно, $p=0,003$ (рисунок 4б).

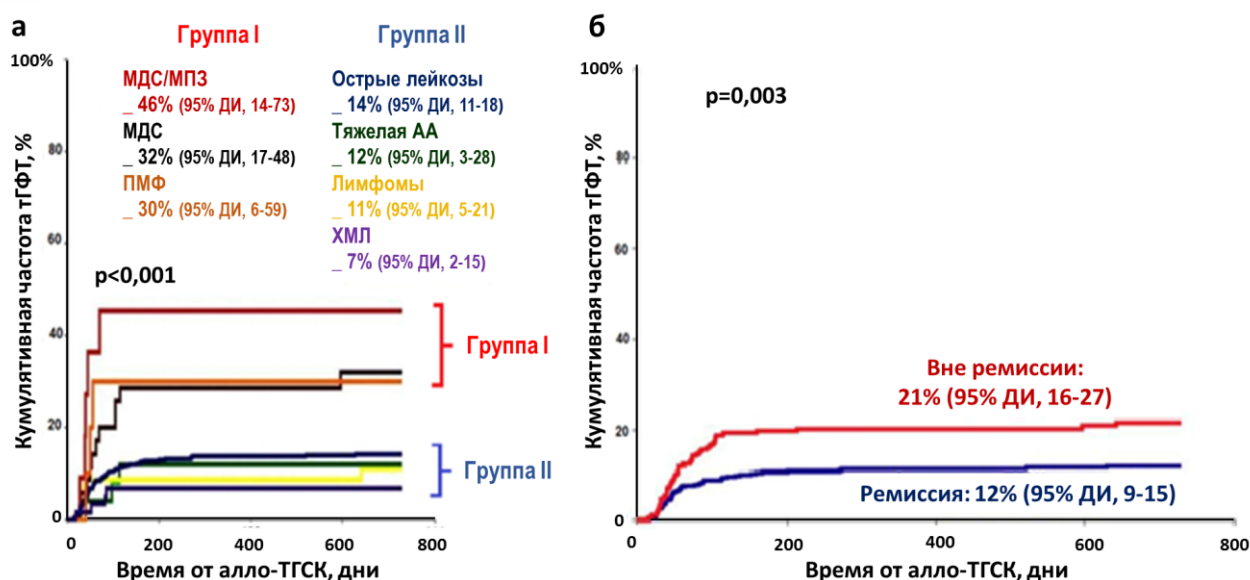


Рисунок 4 – Кумулятивная частота тГФТ в зависимости от диагноза (а) и статуса (б) заболевания.

Оценка уровня ферритина до ТГСК в качестве фактора риска тГФТ была проведена у 351 пациента (49% от всей когорты), преимущественно в проспективной фазе исследования. В ROC-анализе был выявлен пороговый уровень ферритина более 650 нг/мл, ассоциированный с риском тГФТ (AUC=0,610) (0,5137-0,6914), $p=0,007$, 60% чувствительность, 56% специфичность, 95% ДИ, 53-67). В результате кумулятивная частота тГФТ составила 22% (95% ДИ, 16-28) и 13% (95% ДИ, 9-19) при уровне ферритина на момент ТГСК более и менее 650 мкг/мл соответственно ($p=0,03$).

Кумулятивная частота тГФТ различалась в зависимости от типа донора: 10% (95% ДИ, 6-15) для HLA-идентичных сиблингов, 15% (95% ДИ, 12-19) для неродственных доноров и 37% (95% ДИ, 21-54) для гаплоидентичных доноров, $p=0,0001$.

Были обнаружены достоверные различия частоты развития тГФТ в зависимости от источника трансплантата: КМ – 13% (95% ДИ, 10-18), СКПК – 15% (95% ДИ, 12-19) и при их сочетании – 33% (95% ДИ, 14-54) ($p=0,04$).

Анализ влияния АВ0-совместимости пациента и донора оказался значимым при сравнении АВ0-совместимых ТГСК со всеми вариантами АВ0-несовместимости: 12% (95% ДИ, 9-16) против 18% (95% ДИ, 14-22) ($p=0,04$). При этом критериям парциальной красноклеточной аплазии (ПККА) соответствовали 11 случаев (1,5%) из всей когорты, и доля ПККА в структуре тГФТ составила 5% ($n=5$), а в группе без тГФТ – 1% ($n=6$).

Анамнез беременностей у донора оценен в 158 случаях и увеличивал кумулятивную частоту тГФТ с пограничной достоверностью (17% против 5% в случае наличия и отсутствия беременности соответственно, $p=0,05$).

Профилактика РТПХ достоверно влияла на частоту тГФТ только при гаплоидентичных ТГСК ($n=33$): при использовании АТГ – 57% (95% ДИ, 11-87), при сочетании АТГ и птЦФ – 100%, птЦФ – 19% (95% ДИ, 6-39), при других вариантах – 67% (95% ДИ, 0-99), $p=0,0003$.

Частота тГФТ была выше при наличии инфекционных эпизодов. При реактивации вирусных инфекций она составила: 19% (95% ДИ, 16-23) против 5% (95% ДИ, 2-9) при отсутствии таковой ($p<0,001$), в случаях документированного тяжелого сепсиса: 26% (95% ДИ, 19-33) против 12% (95% ДИ, 9-15), $p<0,001$. Развитие эндотелиопатии (ТМА или ВОБ) также было ассоциировано с повышением кумулятивной частоты тГФТ: 24% (95% ДИ, 14-36) против 14% (95% ДИ, 11-17), $p=0,03$.

Многофакторный анализ потенциальных предикторов и посттрансплантационных факторов, ассоциированных с тяжелой ГФТ

В многофакторный анализ были включены оцененные на предыдущем этапе параметры, имевшие значение $p < 0,05$ (рисунок 5). Уровень ферритина, наличие беременности у донора, а также варианты профилактики РТПХ при гаплоидентичной алло-ТГСК не включались в модель в связи с охватом менее 50% пациентов от всей когорты.

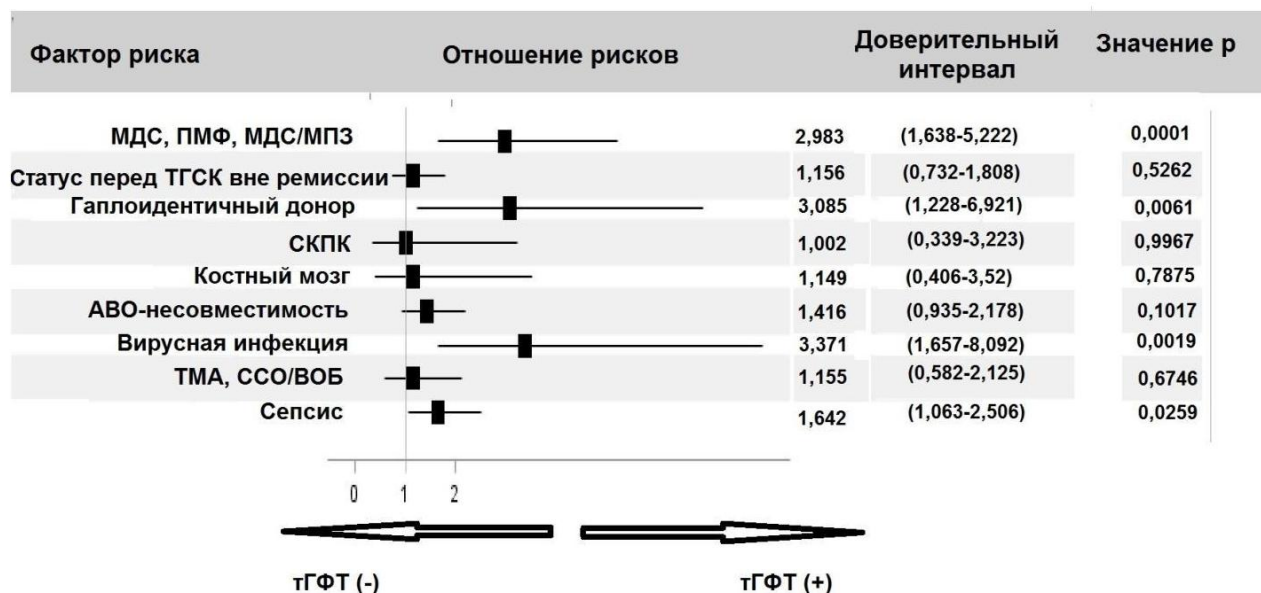


Рисунок 5 – Многофакторный анализ предикторов и посттрансплантационных факторов, ассоциированных с развитием тГФТ

В многофакторном анализе в общей когорте сохраняли свое значение диагнозы МДС, ПМФ и МДС/МПЗ (отношение рисков 2,983, 95% ДИ, 1,638-5,222, $p < 0,0001$), гаплоидентичный донор (отношение рисков 3,085, 95% ДИ, 1,228-6,921, $p = 0,0061$), наличие вирусных инфекций (отношение рисков 3,371, 95% ДИ, 1,657-8,092, $p = 0,002$) и сепсис (отношение рисков 1,642, 95% ДИ, 1,063-2,506, $p = 0,03$). Несовместимость по группе крови между реципиентом и донором ГСК имела лишь пограничное значение, тогда как источник трансплантата и развитие эндотелиопатий утратили свое значение.

Ретроспективный анализ эффективности лечения тяжелой гипофункции трансплантата

Ретроспективно были проанализированы различные варианты терапевтической тактики, использовавшиеся для контроля функции трансплантата в случаях посттрансплантационных цитопений, соответствующих критериям тГФТ ($n = 103$). Учитывая разнообразие течения тГФТ и использованной терапевтической тактики, пациенты были классифицированы в три группы: 1) пациенты, получавшие ростовые факторы по поводу некритериальной цитопении, но развившие впоследствии критериальную тГФТ ($n = 16$); 2) пациенты, получавшие специфическую терапию, направленную на лечение тГФТ, с момента диагностики этого осложнения ($n = 47$); 3) пациенты, получавшие только сопроводительную терапию (отмена миелотоксичных препаратов, трансфузионная поддержка, противовирусная терапия, витаминотерапия, инфузии человеческого иммуноглобулина) ($n = 40$). Данная стратификация отражает естественное течение тГФТ и селекцию пациентов в зависимости от потребности в более интенсивной терапии. Восстановление гемопоэза и исходы в каждой из групп представлены на рисунке 6.

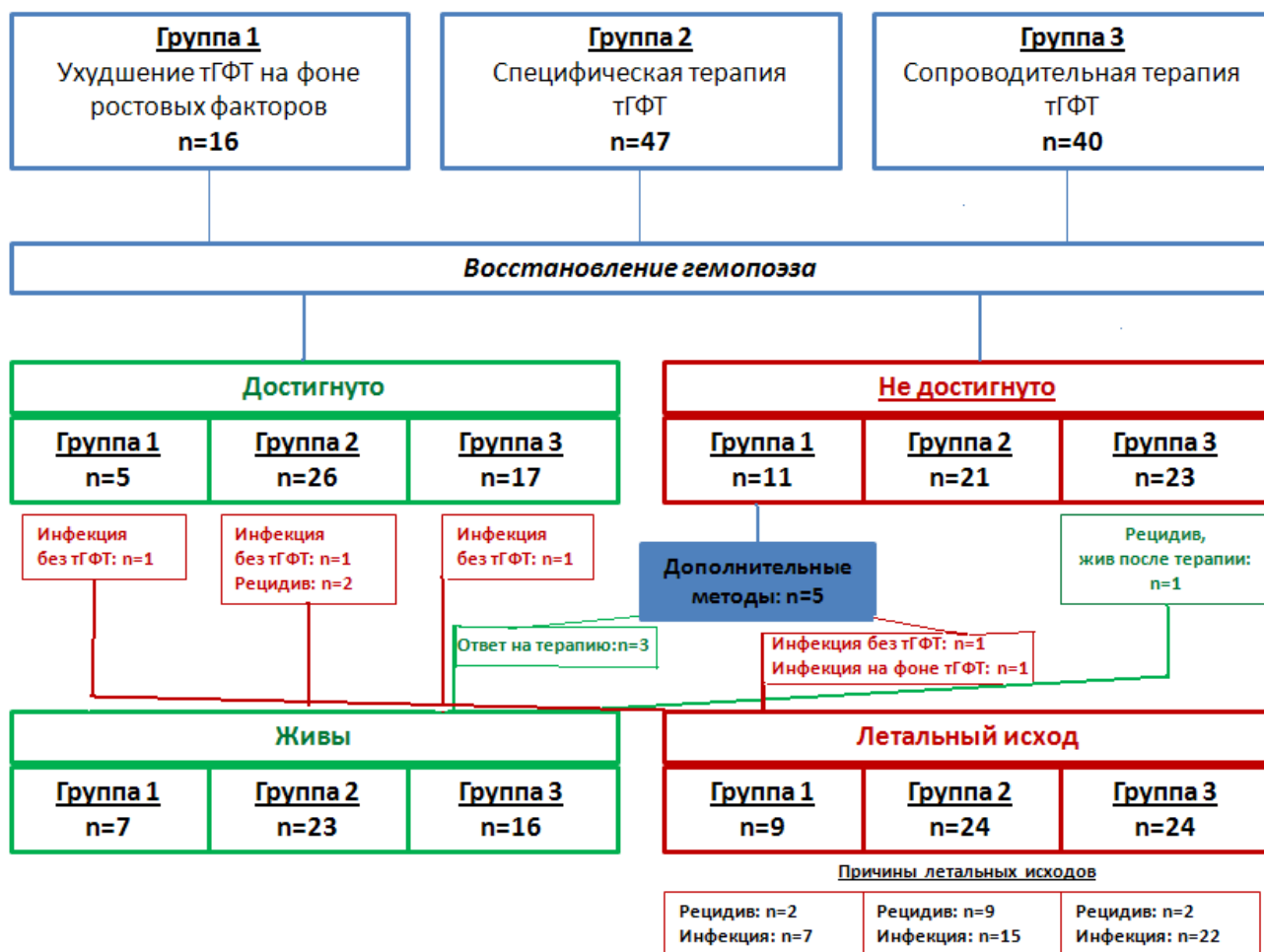


Рисунок 6 – Исходы тГФТ на фоне различных вариантов терапевтической тактики

Группа больных, получавших только сопроводительную терапию, наиболее вероятно отражает естественное течение и исходы тГФТ. Разрешение тГФТ в этой группе имело место у 17 пациентов (43%) с медианой 21 дней (7-111). При этом кумулятивная частота разрешения тГФТ к 100 дню после развития на фоне только сопроводительной терапии составила 40% (95% ДИ, 25-55). В 23 случаях восстановления гемопоэза не произошло. У 2 пациентов в дальнейшем был диагностирован рецидив основного заболевания (1 умер, 1 жив на фоне терапии). Один пациент после восстановления гемопоэза развил тяжелую инфекцию, закончившуюся летальным исходом. Всего в группе сопроводительной терапии живы 16 человек (40%). Медиана продолжительности наблюдения от начала тГФТ до любого исхода в этой группе составила 377 дней (6-1407), при этом у пациентов, восстановивших гемопоэз, медиана продолжительность наблюдения была в почти в 2 раза больше: 531 (276-1407) дней против 276 (6-828) дней.

В дальнейший анализ были включены пациенты, получавшие ростовые факторы (Г-КСФ, эритропоэтин) и другие варианты терапии тГФТ (ритуксимаб, ТДЛ, трансфузии CD34+ клеток без режима кондиционирования, агонисты рТПО) (n=63). Исходя из предыдущего анализа, в данную группу вошли пациенты, требовавшие более интенсивной терапии на момент диагностики тГФТ, или пациенты, дожившие до применения дополнительного метода лечения. Разрешение тГФТ в этой группе произошло у 35 пациентов (56%). Медиана времени от начала любого вида терапии до разрешения тГФТ составила 27 (3-192) дней. Медиана продолжительности наблюдения от начала тГФТ до любого исхода в этой группе составила 359 (8-2134) дней.

Для лечения тГФТ использовались следующие варианты терапевтической тактики: ростовые факторы: Г-КСФ и эритропоэтин (n=50), ритуксимаб (n=23), агонисты рТПО (n=9), ТДЛ (n=11), трансфузии CD34+ клеток без режима кондиционирования (n=14). Данные

варианты терапевтической тактики применялись в разных последовательностях и комбинациях, в связи с чем для проведения анализа их эффективности были выделены сочетания терапии тГФТ на основании ведущего метода (таблица 5).

Таблица 5 – Комбинации методов лечения тГФТ

Комбинации	№	Разрешение тГФТ, n (%)	Живы, n (%)
Ростовые факторы	23	7 (30)	8 (35)*
Агонисты рТПО	5	4 (80)	1 (20)
Ритуксимаб ± агонисты рТПО ± ростовые факторы	12	8 (67)	9 (75)**
ТДЛ ± ритуксимаб ± агонисты рТПО ± ростовые факторы	9	5 (56)	4 (44)
CD34+ без кондиционирования ± ТДЛ ± ритуксимаб ± ростовые факторы	14	9 (64)	8 (57)

Примечание – * – в том числе 2 пациента после повторной алло-ТГСК по поводу длительной тГФТ; ** – в том числе 1 пациент после повторной алло-ТГСК по поводу длительной тГФТ.

При анализе кумулятивной частоты разрешения тГФТ с учетом конкурирующих рисков (рецидив, смерть) на день 100 от начала терапии была выявлена лишь тенденция к лучшему разрешению тГФТ при применении ритуксимаба, трансфузий CD34+ клеток без кондиционирования и агонистов рТПО, в то время как ростовые факторы и ТДЛ показали менее значимую эффективность: 80% (95% ДИ, 33-96), 64% (95% ДИ, 30-85), 60% (95% ДИ, 7-91), 40% (95% ДИ, 18-61) и 38% (95% ДИ, 6-71) соответственно, при этом частота ответа на неспецифическую терапию составила 40% (95% ДИ, 25-55) ($p=0,249$).

Двухлетняя ТЛ была наиболее высокой среди пациентов, получивших ТДЛ в разных сочетаниях – 59% (95% ДИ, 15-86), примерно равной при применении ростовых факторов в монорежиме, агонистов рТПО и среди пациентов, не получавших специфической терапии: 44% (95% ДИ, 27-64), 40% (95% ДИ, 3-80) и 39 (95% ДИ, 23-54) соответственно. Трансфузии CD34+ клеток без кондиционирования были ассоциированы с наименьшей вероятностью ТЛ – 21% (95% ДИ, 5-46), а в подгруппе ритуксимаба все летальные случаи были связаны с рецидивом ($p=0,05$).

Соответственно ОВ в течение 2-х лет была наибольшей при применении ритуксимаба в различных комбинациях и трансфузий CD34+ клеток без кондиционирования: 83% (95% ДИ, 48-96) и 71% (95% ДИ, 41-88) соответственно. ОВ была существенно ниже при использовании только сопроводительной терапии, ростовых факторов, ТДЛ и агонистов рТПО: 39% (95% ДИ, 23-55), 37% (95% ДИ, 18-57), 30% (95% ДИ, 5-61) и 20% (95% ДИ, 1-58) соответственно ($p=0,03$). Противоречивые данные о применении агонистов рТПО в данной группе (высокая эффективность в отношении разрешения тГФТ, но низкая выживаемость), вероятно, связаны с относительно высокой долей прогрессии основного заболевания, не связанных с тГФТ: 2 из 5 случаев (40%).

Комбинированная терапия по сравнению с любой терапией в монорежиме или неспецифической терапией имела лишь тенденцию к увеличению частоты разрешения тГФТ (57% (95% ДИ, 36-74) против 45% (95% ДИ, 33-56), $p=0,248$), более низкой ТЛ (28% (95% ДИ, 13-45) против 38 (95% ДИ, 27-50), $p=0,261$) и улучшению ОВ (58% (95% ДИ, 38-74) против 42 (95% ДИ, 30-53), $p=0,112$). При этом время начала терапии и её длительность существенно не влияли на вероятность разрешения тГФТ.

Однако вероятность ОВ принципиально зависела от скорости ответа на любую проводимую терапию. ОВ в течение 1 года составила 52% (95% ДИ, 40-63) и 82% (95% ДИ, 59-93) при персистенции тГФТ более 3-х недель и в случае её разрешения в течение 3-х недель соответственно, $p=0,01$ (рисунок 7).

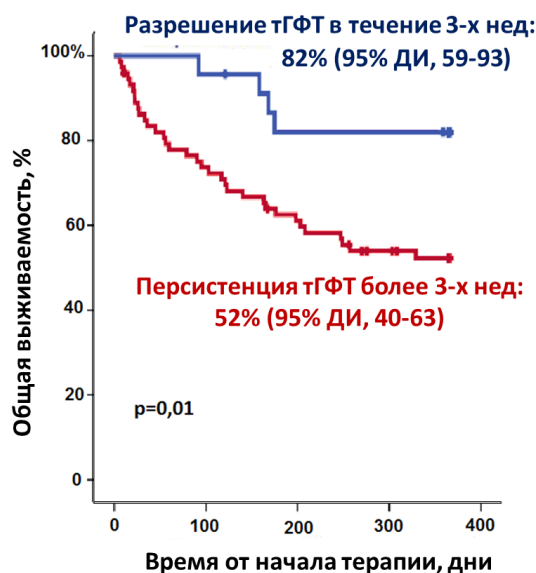


Рисунок 7 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от продолжительности тГФТ

Из 63 пациентов, получавших специфическую терапию, разрешение тГФТ произошло в 35 случаях (56%). На момент проведения анализа были живы 30 больных. Причинами летальных исходов 33 пациентов стали тяжелая инфекция (n=22, 67%) и рецидив основного заболевания (n=11, 33%).

В целом, ретроспективный анализ принятой терапевтической тактики показал что, ни один метод не был эффективным в полной мере, что в большой степени можно объяснить неоднородностью причин тГФТ с одной стороны и значением рецидивов основного заболевания с другой стороны. В данных условиях был актуален поиск метода терапии, эффективного вне зависимости от причины тГФТ.

Анализ эффективности применения агонистов рецепторов тромбопоэтина

Агонисты рТПО показали многообещающие результаты в клинических исследованиях в когорте пациентов с приобретенной апластической анемией. Это явилось основой для проведения проспективного исследования их эффективности для лечения цитопении и критерияльной тГФТ в посттрансплантационном периоде (n=31).

Алло-ТГСК с большой несовместимостью по АВ0 имели место в 7 случаях (23%). Большинство пациентов (n=25, 80%) перенесли вирусную реактивацию (преимущественно, цитомегаловирусную) и получали ганцикловир или валганцикловир в дозе 5-10 мг/кг/сутки или 450-900 мг/сутки соответственно. На момент начала терапии агонистами рТПО 19 пациентов (61%) имели признаки острого инфекционного процесса. Особенностью данной группы было включение случаев цитопении, развившейся на фоне острой РТПХ III-IV степени (n=13, 42%). Таким образом, в данной группе имели место различные сочетания потенциальных причин посттрансплантационной цитопении и тГФТ.

Медиана времени от алло-ТГСК до ГФТ составила 44 (18-664) дня, при этом преобладала персистирующая тГФТ (n=20, 65%), вновь возникшая тГФТ развилась у 11 пациентов (35%). В структуре ГФТ имела место посттрансплантационная тромбоцитопения в 7 случаях, и критерияльная тГФТ в 24 случаях. Медиана длительности ГФТ была 59 (5-426) дней. Медиана времени от диагноза ГФТ до начала терапии агонистами рТПО и медиана продолжительности терапии составили 15 (0-119) дней и 3 (1-48) недели соответственно. Переносимость терапии агонистами рТПО была удовлетворительной, эпизодов токсичности 3-4 степени не отмечалось. Гепатотоксичность 1 степени на фоне приема элтромбопага, не потребовавшая отмены препарата, имела в 1 случае.

Всего 16 (52%) пациентов ответили на терапию агонистами рТПО. Полный и частичный ответ был достигнут в 4 (13%) и 12 (39%) случаях соответственно. Медиана роста АЧН и тромбоцитов во всей группе составила $1,2 (0,1-5,6) \times 10^9/\text{л}$ ($0,1-5,6$) и $19 (2-205) \times 10^9/\text{л}$ соответственно, при этом медиана роста АЧН и тромбоцитов у ответивших на терапию пациентов была выше и составила $2,0 (0,1-6,0) \times 10^9/\text{л}$ и $34 (14-205) \times 10^9/\text{л}$.

Медиана кумулятивной дозы ромиплостима и элтромбопага у ответивших пациентов составила 30 мкг/кг (3,5-73) и 2100 мг (750-50400) соответственно. Медиана времени достижения ответа для ромиплостима составила 63 дня (5-181), для элтромбопага 38 дня (8-426).

Кумулятивная частота разрешения ГФТ на фоне терапии агонистами рТПО составила 72% (95% ДИ, 43-88), при этом общий ответ на монотерапию агонистами рТПО и комбинацию их с другими методами отличался незначительно: 75% (95% ДИ, 34-92) против 67% (95% ДИ, 12-93), $p=0,376$. Также кумулятивная частота разрешения ГФТ не зависела от применяемого препарата. Инфекционные эпизоды и оРТПХ 3-4 степени не влияли на частоту ответа на терапию агонистами рТПО.

ТЛ в течение 1 года в данной группе составила 36% (17-53), при этом она была существенно выше в группе, не ответивших на терапию: 63% (95% ДИ, 26-81) против 14% (95% ДИ, 0-31), $p=0,003$ (рисунок 8а). Общая выживаемость через 1 год от начала терапии агонистами рТПО составила 56% (95% ДИ, 36-72). Она значимо различалась у ответивших и не ответивших на терапию пациентов: 78% (95% ДИ, 47-93) против 33% (95% ДИ, 12-56) ($p=0,004$) (рисунок 8б).

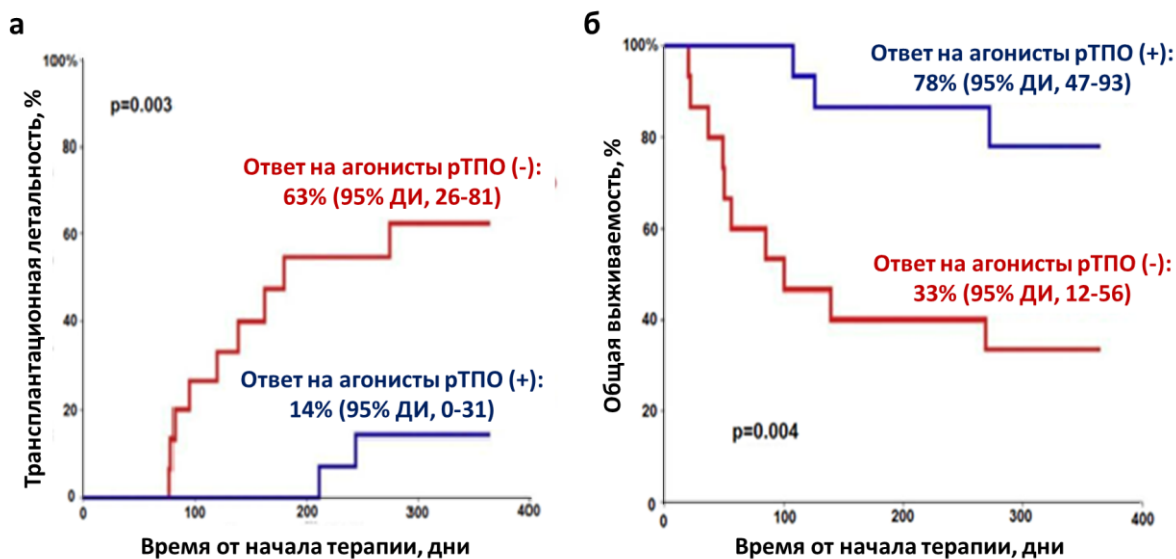


Рисунок 8 – Трансплантационная летальность (а) и общая выживаемость в зависимости от ответа на терапию агонистами рТПО

К моменту проведения анализа 18 пациентов из исследуемой группы погибли. Причиной смерти стали инфекционные осложнения ($n=11$), рецидив основного заболевания ($n=4$) и оРТПХ III-IV степени ($n=3$).

Таким образом, данный фрагмент исследования показал, что агонисты рТПО являются эффективной терапией ГФТ, в том числе у пациентов с тГФТ на фоне тяжелой РТПХ и инфекционных осложнений.

ВЫВОДЫ

1. В крупном когортном исследовании взрослых пациентов кумулятивная частота развития критериальной тГФТ составила 14 % (ДИ 95 %, 12-17) в течение 12 месяцев после алло-ТГСК.
2. Манифестация тГФТ включает персистирующую с момента приживления трансплантата (21 %) и вновь возникшую (79 %) цитопению с вовлечением двух (59 %) или трех (41 %) ростков кроветворения, которые имеют разный прогноз. Вероятность разрешения тГФТ выше при двухростковой цитопении (64 % против 29 %, $p<0.001$).
3. Развитие тГФТ ассоциировано с повышением трансплантационной летальности: 29 % (ДИ 95 %, 21-38) против 18 % (ДИ 95 %, 15-21) в группе пациентов без признаков тГФТ ($p=0.007$).
4. В качестве предтрансплантационных факторов риска развития тГФТ идентифицированы первичный диагноз миелопролиферативного заболевания (ОР 2.98, ДИ 95 %, 1.64-5.22, $p=0.0001$) и использование гаплоидентичного донора ГСК (ОР 3.09, ДИ 95 %, 1.23-6.92, $p=0.0006$). Риск развития тГФТ повышается у больных с сепсисом (ОР 1.64, ДИ 95 %, 1.06-2.51, $p=0.026$) и вирусной реактивацией (ОР 3.37, ДИ 95 %, 1.66-8.09, $p=0.002$).
5. Ретроспективный анализ использования сопроводительной терапии, ростовых факторов, иммуносупрессивной терапии, трансфузий донорских лимфоцитов и CD34+ клеток в разных комбинациях и последовательности не выявил оптимальной терапевтической тактики при тГФТ. Отсутствие разрешения тГФТ в течение 3 недель на фоне терапии сопряжено со снижением общей выживаемости (39 %, ДИ 95%, 28-51 против 67 %, ДИ 95 %, 42-83).
6. Агонисты рТПО являются эффективным методом терапии тГФТ с частотой общего ответа 52 % (ДИ 95 %, 35-68). Ответ на терапию агонистами рТПО ассоциирован с повышением общей выживаемости пациентов с тГФТ до 78 % (ДИ 95 %, 47-93) против 33 % (ДИ 95%, 12-56) в группе пациентов с отсутствием ответа ($p=0.004$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для постановки диагноза гипофункции трансплантата необходимо исключить рецидив злокачественного заболевания, оценить степень донорского химеризма для исключения отторжения трансплантата, а также клеточность и морфологический состав пунктата костного мозга. При сохранении полного или стабильного высокого смешанного донорского химеризма и ремиссии основного заболевания следует провести скрининг на дефицитные состояния (витамин В12, фолаты), возможные иммунные осложнения (антитела к тромбоцитам и эритроцитам, уровень лактатдегидрогеназы), вирусные инфекции (ВПГ 1,3 и 6 типа, цитомегаловирус, парвовирус В19, ЭБВ), осуществить пересмотр текущей терапии с целью выявления и возможной отмены или коррекции дозы миелотоксичных лекарственных средств.
2. При планировании алло-ТГСК и после ее проведения необходимо оценивать риск развития тГФТ на основании установленных факторов риска с целью оптимизации сроков и выбора терапии данного осложнения.
3. В терапии первой линии помимо базовых терапевтических мероприятий, включающих восполнение дефицита витаминов, отмену миелотоксичных лекарств, лечение инфекционных эпизодов, контроль РТПХ, могут применяться ростовые факторы и агонисты рТПО. Назначение агонистов рТПО может рассматриваться у всех больных с признаками тГФТ и цитопенией на фоне РТПХ как универсальная опция вне зависимости от патогенетических механизмов и факторов риска. Применение ритуксимаба в первой линии обосновано при наличии признаков иммунного этиологии гипофункции трансплантата.
4. При неэффективности данных методов следует рассматривать комбинацию терапевтических опций или повторную трансфузию ГСК в качестве второй линии. Также более интенсивную тактику следует применять при наличии у пациента сопутствующих инфекционных осложнений.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Алло-ТГСК	– аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
АТГ	– антитимоцитарный глобулин
ВОБ	– веноокклюзионная болезнь
ВПГ	– вирус простого герпеса
ГСК	– гемопоэтические стволовые клетки
ДИ	– доверительный интервал
КМ	– костный мозг
ЛХ	– лимфома Ходжкина
МАК	– миелоаблативный режим кондиционирования
МДС	– миелодиспластический синдром
МДС/МПЗ	– миелодиспластическое/миелопролиферативное заболевание
МПЗ	– миелопролиферативное заболевание
НХЛ	– неходжкинские лимфомы
ОВ	– общая выживаемость
ОЛЛ	– острый лимфобластный лейкоз
ОМЛ	– острый миелобластный лейкоз
ОМЛ	– острый миелобластный лейкоз
oРТПХ	– острая «реакция-трансплантат-против-хозяина»
ПККА	– парциальная красноклеточная аплазия
ПМФ	– первичный миелофиброз
птЦФ	– посттрансплантационный циклофосфан
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РИК	– режим кондиционирования со сниженной интенсивностью доз
рТПО	– рецептор тромбопоэтина
РТПХ	– реакция «трансплантат-против-опухоли»
СКПК	– стволовые клетки периферической крови
ССО	– синдром синусоидальной обструкции
ТАА	– тяжелая апластическая анемия
тГФТ	– тяжелая гипофункция трансплантата
ТЛ	– трансплантационная летальность
ТМА	– тромботическая микроангиопатия
ТПО	– тромбопоэтин
ХЛЛ	– хронический лимфолейкоз
ХМЛ	– хронический миелолейкоз
ХММЛ	– хронический миеломонолейкоз
хрРТПХ	– хроническая «реакция-трансплантат-против-хозяина»
СІВМTR	– Center for International Blood and Marrow Transplant Research, Центр международных исследований трансплантации крови и костного мозга
ЕВМТ	– European Group of Blood and Marrow Transplantation, Европейская группа по трансплантации крови и костного мозга
HLA	– Human Leukocyte Antigen, человеческий лейкоцитарный антиген
NCCN	– National Comprehensive Cancer Network, Национальная комплексная онкологическая сеть США
RECІL	– Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, критерии оценки ответа солидных опухолей

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Лисуков, И.А. Использование ромиплостима в терапии тромбоцитопений после аллогенной трансплантации костного мозга / И.А. Лисуков, О.С.Успенская, А.Д. Кулагин, С.Н. Бондаренко, Т.А. Рудакова, О.А. Слесарчук, Б.В.Афанасьев // **Онкогематология. 2012. Т. 7. № 1. С. 29-35.**
2. Голубовская, И.К. Недостаточность трансплантата при трансплантации аллогенного костного мозга у больных апластической анемией / И.К. Голубовская, Т.А. Рудакова, А.С. Боровкова, О.С. Успенская, Е.В. Бабенко, И.М. Бархатов, А.Л. Алянский, А.Д. Кулагин, Б.В. Афанасьев // *Гематология и трансфузиология.* – 2014. – Т. 59, № 1-S1. – С. 40.
3. Рудакова, Т.А. Частота и исходы тяжелой гипофункции трансплантата после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у взрослых / Т.А. Рудакова, О.У. Климова, И.М. Бархатов, А.Д. Кулагин, С.Н. Бондаренко, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев // *Вестник гематологии.* – 2017. – Т.13 №8. – С. 68.
4. Рудакова, Т.А. Тяжелая гипофункция трансплантата после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: частота, факторы риска и исходы у взрослых больных / Т.А. Рудакова, А.Д. Кулагин, О.У. Климова, Т.А. Быкова, Е.И. Дарская, А.Г. Смирнова, С.Н. Бондаренко, И.С. Моисеев, М.А. Эстрина, Е.В. Бабенко, А.Л. Алянский, И.М. Бархатов, Б.В. Афанасьев // *Гематология и трансфузиология. Материалы IV Конгресса гематологов России.* – 2018. – Т.63 №1 (прил.1) . – С.30-31.
5. Golubovskaya I.K. Outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome / I.K. Golubovskaya, E.V.Morozova, Y.V. Rudnitskaya, T. A. Rudakova, V.N. Ovechkina, A. A. Rats, A.D. Kulagin, B.V. Afanasyev // 41st Annual Meeting EBMT 2015, Bone Marrow Transplantation. – 2015. – Vol. 50, №1. – P. 273.
6. Rudakova, T.A. Role of polyomavirus in emerging secondary hypofunction of marrow graft following allogeneic bone marrow transplantation in adults / T.A. Rudakova, Y.A. Eismont, I.S. Moiseev, L.S. Zubarovskaya, A.D. Kulagin, B.V. Afanasyev // *Cellular Therapy and Transplantation.* – 2016. – Vol.3. – P. 16.
7. Rudakova, T.A. Incidence, pre-transplant risk factors and outcomes of severe poor graft function after allogeneic HSCT in adult patients / T.A.Rudakova, A.D.Kulagin, O.U. Klimova, T.A. Bykova, I.S. Moiseev, S.N. Bondarenko, E.V.Morozova, E.I. Darskaya, A.G. Smirnova, M.A. Estrina, I.M. Barkhatov, E.V. Babenko, A.L. Alyanskiy, B.V. Afanasyev// EBMT 2018 The 44th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation: Physicians Poster Sessions. – Bone Marrow Transplantation. – 2018. – Vol. 53. – P.145–805.
8. Rudakova, T.A. Thrombopoietin receptor agonists for management of poor graft function in adult patients after allogeneic HSCT. The 45th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation: Physicians – Poster Session / T.A. Rudakova, A.D. Kulagin, O.U. Klimova, I.K. Golubovskaya, T.A. Bykova, E.I. Darskaya, S.N. Bondarenko, I.S. Moiseev, I.M. Barkhatov, E.V. Babenko, A.L. Alyanskiy, B.V. Afanasyev // *Bone Marrow Transplantation.* – 2019. – Vol. 54. – P.144–619.
9. **Beynarovich, A.V. Haploidentical stem cell transplantation in adults for the treatment of hematologic diseases: results of a single center (CIC725) / A.V.Beynarovich, E.V. Babenko, I.S. Moiseev, O.V. Paina, O.V. Pirogova, T.A. Rudakova, T.L. Gindina, E.I. Darskaya, E.V. Morozova, S.N. Bondarenko, L.S. Zubarovskaya, B.V. Afanasyev // Cellular Therapy and Transplantation (CTT) . – 2019. – Vol. 8, №1. – P. 25-36.**
10. Moiseev, I.S. Treatment of steroid-refractory acute and chronic graft-versus-host disease with ruxolitinib: a single-center study / I.S. Moiseev, E.V. Morozova, M.V. Barabanshikova, T.A. Rudakova, O.U. Klimova, N.Yu. Tsvetkov, O.V. Pirogova, E.S. Borzenkova, O.V. Paina, P.V. Kojokar, K.A. Ekushev, T.A. Bikova, E.I. Darskaya, S.N. Bondarenko, L.S. Zubarovskaya, B.V. Afanasyev // *Cellular Therapy and Transplantation (CTT).* – 2019. –Vol.6, № 3. – P.6.
11. **Рудакова, Т.А. Тяжелая гипофункция трансплантата аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с онкогематологическими заболеваниями: частота,**

- факторы риска, исходы / Т.А Рудакова, А.Д.Кулагин, О.У. Климова, И. К. Голубовская, Е. И. Дарская, Т.А. Быкова, А.Г. Смирнова, Е.В. Морозова, С.Н. Бондаренко, И.С. Моисеев, А.В. Бейнарович, Д.Э. Певцов, А.Л. Алянский, Е.В. Бабенко, И.М. Бархатов, Б.В. Афанасьев // Клиническая онкогематология. – 2019. – Т. 12, №3. – С. 309–18.
12. Rudakova, T. A. Thrombopoietin receptor agonists for treatment of poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults / T. A. Rudakova, A.D. Kulagin, I.S. Moiseev, T.A.Bykova, S.N. Bondarenko, M.V. Barabanshikova, A. V. Beinarovich, A.A. Osipova, V.N. Ovechkina, A.L. Alyanskiy, E.I. Darskaya, E.V. Morozova, B. V. Afanasyev // Cellular Therapy and Transplantation (CTT). – 2019. – Vol. 8, N 2. – P. 38-44.