

НИИ детской
онкологии
и гематологии
ГУ РОНЦ
им. Н.Н. Блохина
РАМН

Мобилизация и сбор периферических гематопоэтических стволовых клеток у детей: роль гранулоцитарного колониестимулирующего фактора

Д.м.н. И.С. ДОЛГОПолов

Большинство злокачественных новообразований у детей высокочувствительны к химиотерапии (ХТ). Именно благодаря введению в схемы лечения цитотоксических препаратов за последние три десятилетия достигнут существенный прогресс в детской онкологии.

Общая выживаемость среди педиатрических онкологических больных, едва достигавшая уровня 15–20% в начале 1970-х, к середине 1990-х гг. превысила 70-процентный рубеж, а в настоящее время колеблется в пределах 75–80% [1]. Но если использование ХТ в стандартных дозах привело к значительному улучшению результатов лечения в детской онкологии в целом, то у больных с метастатическими опухолями и неходжкинскими лимфомами прогноз заболевания оставался весьма пессимистическим до начала 1980-х гг. Тогда использование интенсивных комбинированных режимов химиотерапии в дозах, превышавших стандартные на порядок, произвело революцию в лечении лимфомы Беркитта и беркиттоподобных лимфом. Показатели безрецидивной выживаемости выросли с 15 до 92% [2]. Что касается больных с IV стадией нейробластомы, саркомы Юинга, рабдомиосаркомы и больных с рецидивными или резистентными опухолями, высокодозная химиотерапия (ВХТ) не способствовала улучшению отдаленного прогноза. Теоретической базой для дальнейшей

интенсификации ХТ в этой группе больных послужили работы E. Frei и соавт. (1979), которые установили существование феномена «доза – эффект» в опытах in vitro на культурах опухолевых клеток человека [3]. Клиническое значение феномена «доза – эффект», как для монорежимов ВХТ, так и для комбинации препаратов, было показано в исследованиях II фазы. Результаты исследований явно свидетельствовали в пользу применения высоких доз препаратов, в первую очередь алкилирующих агентов, для достижения ремиссии у больных с опухолями из групп высокого риска. Однако, несмотря на высокий процент положительных ответов, длительная выживаемость оставалась крайне низкой при высокой токсичности терапии. Именно токсичность, а конкретно способность режимов ВХТ вызывать длительную, порой необратимую аплазию костного мозга, являлась преградой на пути дальнейшей эскалации доз и интенсификации лечения. Инструментом, позволившим преодолеть это препятствие и интенсифицировать ХТ в несколько раз, стала аутотрансплантация гематопоэтических ство-

ловых клеток (ГСК). Первые исследования II фазы применения мелфалана с последующей трансплантацией ГСК у больных с нейробластомой и саркомой Юинга (1970–80-е гг.) дали обнадеживающие результаты. В дальнейшем исследовании II фазы были получены 55 и 81% положительных ответов у больных с нейробластомой IV стадии и рефрактерной к обычной ХТ саркомой Юинга соответственно [4]. В 1970-е единственным, а в 1980-е гг. основным источником аутологических ГСК являлся костный мозг (КМ) больного. Однако постепенно ситуация стала меняться, и к началу 1990-х гг. специалисты все большего числа центров трансплантации стали отдавать предпочтение клеткам, получаемым из стволовых клеток периферической крови (ПСК) (рис. 1) [5]. Периферическая кровь как источник стволовых клеток имеет ряд преимуществ перед костным мозгом. Во-первых, забор ПСК осуществляется без проведения общей анестезии, вне оперблока. Во-вторых, методика забора ПСК применима для больных, у которых в силу тех или иных причин эксфузия костного мозга невыполнима (опухоль таза, облучение таза). В-третьих, забор ПСК можно повторять многократно, после каждого курса стандартной ХТ, и получать практически неограниченное количество ГСК, позволяющее осуществить несколько последовательных курсов ВХТ с последующей аутотрансплантацией. В-четвертых, применение



ПСК для аутотрансплантации позволяет достоверно ускорить восстановление гемопоэза по сравнению с использованием костного мозга, уменьшить риск инфекционных осложнений и сократить срок пребывания больного в стационаре. В-пятых, в большинстве случаев контаминация материала опухолевыми клетками ниже при использовании ПСК [6].

Предположение, что клетки, сохраняющие способность к самообновлению, дифференцировке и делению, циркулируют в периферической крови в составе фракции лимфоцитов, было впервые высказано русским ученым А.А. Максимовым в 1909 г. на лекции в Берлине [7]. В 1962 г. J. Goodman и G. Hodson впервые ввели термин «стволовые клетки периферической крови». В это же время в опытах *in vitro* и экспериментально на животных было показано, что в крови циркулируют как истинные стволовые, так и полипотентные клетки, способные восстанавливать гемопоэз у летально облученных животных [8].

Содержание СК в крови у здоровых индивидов в норме чрезвычайно низкое и составляет приблизительно 0,1 клетки на 1 мкл, тогда как в костном мозге содержание стволовых клеток в 100 раз выше [9]. В подобных обстоятельствах периферическая кровь не может служить адекватным источником стволовых клеток. При некоторых физиологических и патологических состояниях количество циркулирующих СК резко увеличивается. Впервые в 1976 г. С. Richman и соавт. отметили: фаза выхода из цитопении, индуцированной циклофосфаном, сопровождается 10–50-кратным увеличением количества циркулирующих СК [10]. Однако далеко не всегда фаза выхода после ХТ протекает «безоблачно». Часто она сопровождается инфекционным синдромом, что в свою очередь замедляет восстановление гемопоэза и ухудшает качество сбора ПСК. При этом даже повышение уровня циркулирующих в крови ГСК в 10–30 раз (в самых благоприят-

ных случаях) может быть недостаточным для получения адекватного материала.

С появлением колониестимулирующих факторов (КСФ) методика мобилизации видоизменяется. Публикуются работы, в которых мобилизация при помощи КСФ самостоятельно или последовательно с ХТ позволяет добиться увеличения количества циркулирующих СК до 370 раз (!) от исходного уровня и достоверно улучшить качество собираемого материала [9, 11]. К середине 1990-х гг. назначение КСФ становится обязательной процедурой перед про-

тив: Нейпоген® является рекомбинантным негликозилированным человеческим (рч) Г-КСФ (филграстим), а Граноцит® представляет собой рекомбинантный гликозилированный человеческий Г-КСФ (ленограстим).

Очистка и молекулярное клонирование Г-КСФ были проведены в середине 1980-х гг., а первый рекомбинантный негликозилированный человеческий Г-КСФ – филграстим – был разрешен в США в 1991 г. для клинического применения у онкологических больных, получивших химиотерапию. Филграстим вырабатыва-

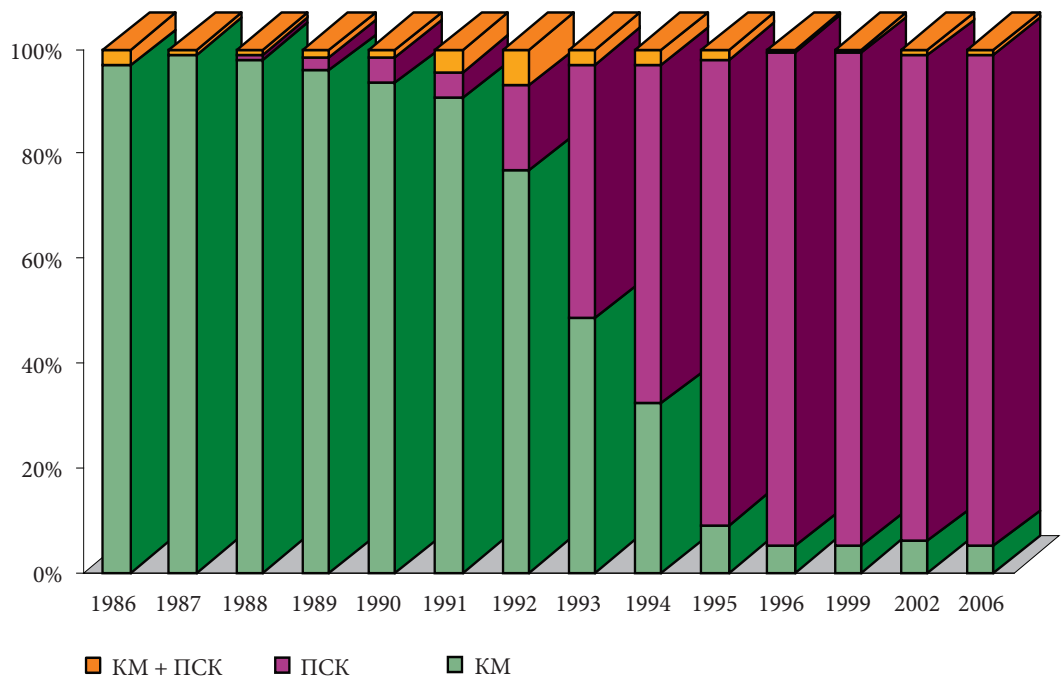


Рис. 1. Источники гематopoэтических стволовых клеток для аутологичной трансплантации (KM – костный мозг, ПСК – периферические стволовые клетки)

ведением лейкафереза (ЛФ). Среди довольно широкой гаммы цитокинов, представленной на фармацевтическом рынке, в мобилизационных режимах применяются в основном гранулоцитарные колониестимулирующие факторы. В настоящее время в России зарегистрированы два оригинальных препарата Г-КСФ: Граноцит® компании «Шугаи Санофи-Авентис» (производство «Санофи Винтроп Индустрия», Франция); Нейпоген® компании «Ф. Хоффманн – Ля Рош». Отме-

ется E. coli, состоит из 173 аминокислот, в отличие от природной молекулы Г-КСФ, которая подвергается O-гликозилированию в положении TR-133, не содержит углеводного остатка. В остальном – по аминокислотной последовательности и конформационной структуре – он практически идентичен природному Г-КСФ. ленограстим (Граноцит®) – высокоочищенный рекомбинантный протеин, состоящий из 174 аминокислот и гликозилированный в участке TR-133, – был за-

регистрован в Европе и Японии в 1993 г. Он продуцируется клетками яичника китайского хомячка, что позволило внедрить в структуру молекулы углеводные цепи, идентичные таковым у молекулы природного Г-КСФ. **Таким образом, ленограстим (Граноцит®) в большей степени, чем филграстим, идентичен природному Г-КСФ**, однако клиническое значение этой модификации еще не установлено. Несмотря на доказательства того, что гликозилирование несущественно для биологической активности рГ-КСФ [12], углеводный остаток действительно придает молекуле Г-КСФ большую стабильность, защищая цистеин-17-сульфгидрильную группу [13, 14].

Исследования *in vitro* многократно продемонстрировали более высокую активность ленограстима (более чем на 25% выше, чем у филграстима) [13, 15]. Согласно международным стандартам специфическая активность филграстима оценивается как 100 000 МЕ/мкг против 127 760 МЕ/мкг у ленограстима. Считается, что такая разница является результатом более низкой химической стабильности филграстима, которая приводила к снижению периода его полужизни в культуральной среде, и более высокой рН-устойчивостью гликозилированной молекулы ленограстима [15].

Все сравнительные исследования, проведенные у человека, были посвящены мобилизации стволовых клеток, однако их результаты не позволяли прийти к единому заключению. М. Hoglund и соавт. установили, что в группе здоровых добровольцев при назначении ленограстима количество СД34⁺ клеток и гранулоцитарно-макрофагальных колониеобразующих единиц в периферической крови было на 25–30% больше, чем в группе с филграстимом [16]. При назначении ленограстима и филграстима в дозе 10 мкг/кг в крови здоровых добровольцев, получавших ленограстим, пик содержания СД34⁺ клеток на 6-й день стимуляции составил 104 +/- 38 СД34⁺/мкл про-

тив 82 +/- 35 СД34⁺/мкл в группе с филграстимом ($p < 0,0001$). Ретроспективный анализ результатов исследования 101 здорового донора, получавших ленограстим ($n = 51$) и филграстим ($n = 50$), проведенный группой итальянских исследователей, не показал достоверного различия в эффективности мобилизации СД34⁺ между двумя группами. Не была отмечена разница в частоте возникновения таких побочных эффектов, как костные, головные боли, тошнота, лихорадка и умеренная спленомегалия (более 2 см) [17]. Кроме того, М. Watts и соавт. сравнили плазменные концентрации Г-КСФ в 1-й день назначения и обнаружили, что уровни филграстима были достоверно выше, чем ленограстима [18]. Эти данные снова указывают на то, что снижение стабильности, которое сопровождается уменьшением эффекта филграстима *in vitro*, не отмечается *in vivo*. Однако сопоставление плазменных концентраций не всегда является хорошим показателем эффективности, поскольку концентрации препарата в плазме не всегда коррелируют с уровнем связывания его с рецепторами. Вот почему авторы исследования предполагают: более высокая активность Г-КСФ может достигаться другими механизмами, включая лиганд-рецепторное взаимодействие. В ряде исследований изучали мобилизацию стволовых клеток у больных, получавших химиотерапию, однако найти разницу между двумя препаратами не удалось [19, 20]. Таким образом, несмотря на то что ситуация *in vitro* вполне ясна, есть основания сомневаться в существовании разницы в активности ленограстима и филграстима *in vivo*. При этом необходимо учитывать: **чтобы добиться идентичных результатов при одинаковой продолжительности терапии обоими препаратами, филграстима потребовалось почти в три раза больше, чем ленограстима** [41, 16].

Стандартно рекомендованы дозы Г-КСФ от 5 до 10 мкг/кг (250–500 мкг/м²). Однако в клинической практике дозы могут широко ва-

рироваться – от 50 мкг/м² до 30 мкг/кг (более 1000 мкг/м²) и даже более 70 мкг/кг/д [21, 22]. Сверхмалые дозы (50 мкг/м²) эффективны только для предварительной не леченных больных [23]. У остальных пациентов, прежде всего у детей, эффективны стандартные дозы. В рандомизированных исследованиях при сравнении доз 5 и 7, 5 и 10 мкг/кг Г-КСФ не обнаружено достоверной разницы ни в уровне ПСК в сепарате, ни в скорости восстановления гемопоэза после трансплантации полученного материала [24]. Следует отметить, что в аналогичных исследованиях у взрослых больных найдена прямая зависимость содержания СК в периферической крови от дозы гемопоэтических факторов роста (ГФР) [25, 26]. Количество публикаций, сравнивающих мобилизационную эффективность этих двух форм Г-КСФ, ограничено, однако в существующих на сегодняшний день рандомизированных исследованиях, проведенных как на больных, так и на здоровых донорах, достоверных различий выявлено не было [18, 19, 27, 28].

Проблема оценки качества собранного материала, с точки зрения обеспечения быстрого и длительного восстановления гемопоэза, является одной из основных в онкогематологии. Культуральные исследования ГМ-КОЕ утратили свою актуальность, поскольку их невозможно стандартизировать, а результаты, полученные в разных лабораториях, широко варьируют. Кроме того, учитывая 10–14-дневную длительность культивирования Г-КСФ, в этих исследованиях определяются только поли- и мультипотентные клетки. Измерение содержания в материале клеток, несущих на своей поверхности СД34⁺ рецептор, на поточном флуоцитометре – самый быстрый и достоверный на сегодняшний день метод определения количества собираемых гематопоэтических стволовых клеток и предсказания посттрансплантационной кинетики восстановления. Большинство исследователей считают, что мини-



мальная для успешного проведения аутотрансплантации доза ГСК находится в пределах 2,0–2,5 x 10⁶ СД34⁺/кг в трансплантируемом материале, а оптимальная, обеспечивающая быстрое восстановление не только лейкоцитов, но и тромбоцитов, превышает 5,0 x 10⁶ СД34⁺/кг [26, 29].

Одним из основных был и остается вопрос, в какой момент следует начинать лейкаферез. Эта проблема актуальна, поскольку интервалы между началом циркуляции ПСК, их максимумом и возвращением к базовому уровню после мобилизационного режима чрезвычайно коротки и вариабельны. В течение нескольких дней циркулирующая в крови популяция меняется. Вначале преобладают стволовые и полипотентные клетки, которые в дальнейшем замещаются унипотентными и зрелыми клетками, непригодными для долговременной репопуляции. После того, как была показана корреляция между количеством СД34⁺ клеток, циркулирующих в периферической крови, и количеством СД34⁺ клеток в продукте ЛФ, мониторинг этих клеток становится наиболее информативным тестом для определения момента начала сеансов ЛФ [29, 30]. Пороговым считается уровень СД34⁺ клеток в периферической крови > 1% от всех моноядерных клеток или абсолютный уровень ≥ 10 x 10⁶/л СД34⁺ клеток [31, 32]. В случаях когда уровень СД34⁺ в крови не может быть определен в силу различных причин, можно использовать такие традиционные параметры, как количество лейкоцитов, тромбоцитов и моноцитов крови. Относительный моноцитоз после ХТ-индуцированной цитопении на фоне лейкоцитоза > 1,0 x 10⁹/л и быстрого повышения количества тромбоцитов указывает на период интенсивной циркуляции ПСК [33, 34]. J. Fernandez и соавт. (1993) отмечают, что максимальное количество СД34⁺ клеток в группе из 18 детей с различными злокачественными опухолями было собрано при уровне лейкоцитов периферической крови > 2 x 10⁹/л, тромбоци-

тов > 100 x 10⁹/л и быстром нарастании абсолютного и относительного моноцитоза крови у больных [35]. В исследовании, в котором участвовали 225 взрослых больных миеломой (у 40% из них ХТ продолжалась более 12 мес.), хорошие сборы СД34⁺ клеток получены при восстановлении лейкоцитов > 0,5 x 10⁹/л и тромбоцитов > 50 x 10⁹/л [29]. На основании успешного сбора ПСК у 38 детей Y. Takae предлагает начинать ЛФ при быстром нарастании лейкоцитов > 1,5 x 10⁹/л, тромбоцитов > 150 x 10⁹/л и моноцитов > 10% [33]. В другом педиатрическом исследовании на 16 больных ЛФ предлагается начинать при подъеме лейкоцитов > 1,0 x 10⁹/л на фоне обязательного стабильного восстановления тромбоцитов > 70 x 10⁹/л [36]. Многие, но не все исследователи отмечают четкую корреляцию между количеством тромбоцитов и СД34⁺ клеток в периферической крови [29, 33, 34].

Использование КСФ в период восстановления гемопоэза у больных после химиотерапии несколько модифицировало критерии для начала сбора ПСК. Длительность лейкопении на фоне применения КСФ короче, а число ядерных клеток в периферической крови больше. Однако в формуле крови преобладают клетки гранулоцитарного ростка различной степени зрелости, что отражает лишь частичное восстановление функций костного мозга. Таким образом, если для мобилизации ПСК используется ХТ с последующим применением одного из КСФ, то критериями для начала ЛФ должны служить восстановление по меньшей мере двух гемопоэтических ростков, а не одного миелоидного. Хотя не было проведено рандомизированных сравнительных исследований, большинство авторов признают комбинацию «ХТ + Г-КСФ» более эффективной, чем раздельное назначением ХТ и/или Г-КСФ [37]. По данным специалистов Европейской школы онкологов, назначение гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора в сочетании с химиотерапией вызыва-

ет в 10 раз больший прирост циркулирующих СК, чем назначение одного Г-КСФ [38]. По данным Европейской группы по трансплантации крови и костного мозга (ЕВМТ), 83% сеансов сепарации ПСК проводятся после комбинированной мобилизации ХТ + Г-КСФ. Химиотерапия, как указано выше, может быть различной по длительности, сочетанию препаратов и способов их введения и во всех случаях должна быть эффективна в отношении опухоли. Традиционно Г-КСФ назначается на следующий день после окончания ХТ. Однако назначение цитокинов на Д + 3 и даже на Д + 6 при определенных условиях не отражается негативно на результатах сбора, зато снижает стоимость лечения [39].

В педиатрической практике выделение ПСК проводят на непрерывнопоточных сепараторах типа Baxter CS3000^{plus}, COBE Spectra или Frezenius; реже – на сепараторах с прерывистым потоком Haemonetics. Во всех приборах использован принцип разделения клеток по градиенту плотности (гемопоэтические клетки-предшественники находятся в слое плотностью 1050–1066). Хотя серьезные рандомизированные исследования отсутствуют, а анализ литературных публикаций затруднен в связи с неоднородностью групп и различиями в критериях оценки, складывается впечатление, что технические отличия сепараторов не сказываются на количестве и качестве собранных ПСК. Однако есть один важный параметр, которым отличаются сепараторы, – экстракорпоральный объем. Он варьирует от 165 мл у COBE Spectra до 328 мл у Baxter CS3000^{plus}. Дело в том, что при работе сепаратора определенная часть крови донора находится в контуре аппарата, уменьшая таким образом ОЦК, что у детей с малой массой тела (менее 20 кг) существенно затрудняет проведение сеанса и может приводить к гиповолемии, гипотензии и увеличивать риск цитратной интоксикации.

С 1997 по 2009 г. в НИИ детской

онкологии и гематологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН проведено 580 сеансов сепарации ПСК у детей с солидными опухолями и гемобластомами после программной химиотерапии (у 86% пациентов) на фоне стимуляции кроветворения Г-КСФ. В 452 случаях использовался филграстим и в 128 случаях ленограстим¹. Стимуляция кроветворения Г-КСФ была начата отсрочено, в среднем на 14-й (10–26-й) день от начала ХТ в фазе выхода пациентов из аплазии кроветворения, как это было описано ранее [21]. Средняя доза Г-КСФ составила 5,3 (3,8–13) мкг/кг. Средний вес больных – 28 кг (10–62), средний возраст – 9,1 (1,1–28) лет. Проведено 52 сеанса сепарации у детей с весом менее 15 кг. Большинство больных было интенсивно предлечено и на момент первого сеанса сепарации получило 5 (1–19) курсов химиотерапии. Сеансы ЛФ проводились на сепараторах Baxter CS3000^{plus} и COBE Spectra через двухпросветный подключичный катетер в 96% случаев. Только у 4% больных (старшего возраста) нами использовался периферический доступ. Средний объем обработанной крови 148 (38–300) мл/кг. Среднее содержание ядерных клеток в сепарате, полученном за 1 сеанс, – 1,7 (0,6–24,8) × 10⁸/кг и CD34⁺ – 3,2 (0,005–32,1) × 10⁶/кг. При сравнении групп пациентов, получавших филграстим и ленограстим, не выявлено достоверной разницы в содержании CD34⁺ клеток в сепарате, в количестве сборов, необходимых для получения дозы CD34⁺ клеток 2,0–2,5 × 10⁶/кг, а также в частоте и выраженности побочных эффектов. Количество CD34⁺ клеток, собранных за 1 сеанс, составило 3,0 (0,005–28,7) × 10⁶/кг и 3,3 (0,02–32,1) × 10⁶/кг в группе филгра-

стима и ленограстима соответственно (p = 0,89). Средняя суточная доза препарата составила 5,2 (3,8–10,4) и 6 (5,1–13) мкг/кг для филграстима и ленограстима соответственно (p = 0,11). Таким образом, по результатам анализа большой группы педиатрических больных можно сделать вывод о сравнимой эффективности филграстима и ленограстима, применяемых для мобилизации гемопоэтических стволовых клеток.

В нескольких международных исследованиях оценивалась способность ленограстима и филграстима увеличивать число гемопоэтических стволовых клеток в циркулирующей крови. С использованием подхода идентификации дозы (которая обеспечивала бы одинаковое число циркулирующих CD34⁺ клеток) было проведено исследование у 127 пациентов с лимфомой или миеломной болезнью. Чтобы в ходе цитафереза получить полноценный трансплантат, необходимо иметь 2,0 × 10⁶ CD34⁺ клеток / кг. Это количество клеток обеспечивает дозу **Граноцита 263 мкг в сутки** – один флакон или в среднем 3,5 мкг/кг/сутки. Для достижения того же результата при одинаковой терапии потребовалась доза филграстима 10 мкг/кг/сутки, то есть почти в полтора раза больше, чем Граноцита [40, 41].

При использовании метода введения одинаковой дозы двух препаратов двум группам больных и измерения числа циркулирующих CD34⁺ клеток вводились равные дозы двух препаратов (10 мкг/кг, поскольку изучалась мобилизация клеток без химиотерапии), при этом при помощи Граноцита получали на 25% больше CD34⁺ клеток, чем при введении филграстима [16, 42]. Это особенно важно, если планиру-

ется цитаферез у больных, которым будет впоследствии проведена трансплантация стволовых клеток. Действительно, в процессе приготовления клеток для трансплантации большое значение имеет число сеансов цитафереза, учитывая стоимость каждого сеанса, не говоря уже о неудобстве, доставляемом пациенту.

Проанализировав данные литературы и результаты собственных исследований, в заключение следует отметить: применение Г-КСФ существенно улучшило результаты мобилизации и сборов гемопоэтических стволовых клеток для последующей аутологичной и аллогенной трансплантации во всех группах онкологических больных и у здоровых доноров. Несмотря на то что изучение различий эффективности гликозилированных и негликозилированных Г-КСФ продолжается, каждый из них имеет свои преимущества в клинической педиатрической практике. К преимуществам филграстима следует отнести его жидкую форму и возможность варьировать суточную дозу препарата у детей с малым весом при условии разделения флакона в асептических условиях аптечной больничной сети по назначению врача.

Отрицательной стороной является нестабильность филграстима в растворе в концентрации менее 5 мкг/мл и необходимость добавлять альбумин для повышения его стабильности. **Преимуществом ленограстима (Граноцит®) является его стабильность в растворе в любой концентрации, что позволяет вводить его внутривенно капельно без дополнительных сестринских манипуляций с готовым раствором. Это особенно важно у больных в посттрансплантационном периоде, когда**

¹ В России Граноцит (ленограстим) зарегистрирован для применения у взрослых:

- для сокращения периода нейтропении и связанных с ней осложнений у больных с немиелопролиферативными новообразованиями, которым проводилась миелосупрессивная химиотерапия с последующей трансплантацией костного мозга и находящихся в группе повышенного риска развития продолжительной выраженной нейтропении;
- для уменьшения продолжительности выраженной нейтропении и связанных с ней осложнений после стандартной миелосупрессивной химиотерапии;
- для мобилизации периферических клеток – предшественников гемопоэза в периферической крови.



ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ВЕДУЩАЯ
К ПОБЕДЕ

**ГРАНОЦИТ®**
(ЛЕНОГРАСТИМ)

единственный идентичный
человеческому гранулоцитарный
колониестимулирующий фактор

Представительство АО «Санофи-авентис груп» (Франция).
Адрес: 115035, Москва, ул. Садовническая, д. 82, стр. 2.
Тел.: (495) 721-1400. Факс: (495) 721-1411.
www.sanofi-aventis.ru



И.С. ДОЛГОПОЛОВ

Мобилизация и сбор периферических гематопозитических стволовых клеток у детей: роль и место гранулоцитарного колониестимулирующего фактора

1. *Stiller C.A.* Aetiology and epidemiology // *Pediatric Oncology. Clinical practice and controversies* / Ed. by P.N. Plowman & C.R. Pinkerton. London: Chapman & Hall Medical, 1992. P. 1–24.
2. *Patte C., Michon J., Behrendt H. et al.* Results of the LMB 89 protocol for childhood B-cell lymphoma and leukemia (ALL). Study of the SFOP (French Pediatric Oncology Society) // *Med. Pediatr. Oncol.* 1997. Vol. 5. P. 358.
3. *Frei E., Canellos G.P.* Dose: a critical factor in cancer chemotherapy // *Am. J. Med.* Vol. 69. 1980. № 4. P. 585–594.
4. *Hartmann O., Vassal G., Valteau D. et al.* Autologous bone marrow transplantation in pediatric solid tumors: phase II studies // *Bone Marrow Transplant.* 1991. Vol. 7. P. 106–108.
5. *To L.B., Haylock D.N., Simmons P.J., Juttner C.A.* The biology and clinical uses of blood stem cells // *Blood.* Vol. 89. 1997. № 7. P. 2233–2258.
6. *Brugger W., Bross K., Glatt M. et al.* Mobilization of tumor cells and hematopoietic progenitor cells into peripheral blood in patients with solid tumor // *Blood.* Vol. 83. 1994. P. 636–640.
7. *Maximov A.* Der lymphozyt als gemeinsame stamzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und postfetalen leben der saugtiere // *Folia Haematal.* 1909. Vol. 8. P. 134–135.
8. *Metcalf D.* Hematopoietic Colonies. Berlin: Springer-Verlag, 1977.
9. *Rosenfeld C.S., Nemunaitis J.* The role of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-stimulated progenitor cells in oncology // *Semin. Hematol.* 1992. Vol. 29. P. 19–26.
10. *Richman C.M., Weiner R.S., Yankee R.A.* Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man // *Blood.* Vol. 47. 1976. P. 1031–1034.
11. *Schwartzberg L., Birch R., Heffernan M., West W.* Mobilized peripheral blood stem cell harvest in 1017 patients: the response technology experience // *Third International symposium on peripheral blood stem cell autografts.* Bordeaux (France). October, 11–13. 1993. P. 14.
12. *Nissen C.* Glycosylation of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: implications for stability and potency // *Eur. J. Cancer.* 1994. Vol. 30A (Suppl. 3). P. 12–14.
13. *Arakawa T., Prestrelski S.J., Narhi L.O. et al.* Cysteine 17 of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor is partially solvent-exposed // *J. Protein. Chem.* 1993. Vol. 12. P. 525–531.
14. *Stoppa A.M., Blaise D., Viens P. et al.* Phase I study of in vivo lenograstim (rHuG-CSF) for stem cell collection demonstrates improved neutrophil recovery after autologous bone marrow transplantation // *Bone Marrow Transplant.* Vol. 13. 1994. № 5. P. 541–547.
15. *Querol S., Cancelas J.A., Amat L. et al.* Effect of glycosylation of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on expansion cultures of umbilical cord blood CD34+ cells // *Haematologica.* 1999. Vol. 84. P. 493–498.
16. *Hoglund M., Smedmyr B., Bengtsson M. et al.* Mobilization of CD34+ cells by glycosylated and nonglycosylated G-CSF in healthy volunteers: a comparative study // *Eur. J. Haematol.* 1997. Vol. 59. P. 177–183.
17. *Martino M., Console G., Irrera G. et al.* Harvesting peripheral blood progenitor cells from healthy donors: retrospective comparison of filgrastim and lenograstim // *J. Clin. Apher.* Vol. 20. 2005. № 3. P. 129–136.
18. *Watts M.J., Addison I., Long S.G. et al.* Crossover study of the haematological effects and pharmacokinetics of glycosylated and non-glycosylated G-CSF in healthy volunteers // *Br. J. Haematol.* 1997. Vol. 98. P. 474–479.
19. *Schioldt I., Knudsen L.M., Jensen L. et al.* Flow cytometry comparison of CD34+ subsets in bone marrow and peripheral blood after priming with glycosylated or non-glycosylated rhG-CSF // *Bone Marrow Transplant.* 1998. Vol. 21. P. 1167–1170.
20. *Saccardi R., Avanzi G., Bezzini R.* Mobilization of PBSC for hematological rescue: comparison between glycosylated and non-glycosylated G-CSF // *Bone Marrow Transplant.* 1997. Vol. 19 (Suppl. II). P. 511.
21. *Dolgoplov I., Yankelevich M., Andreeva L., Mscheidze D., Ijoguine D., Siegel S., Mentkevich G.* Feasibility and safety of peripheral blood stem cell collection in children with poor-prognosis solid tumors: a single center experience // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 1999. Vol. 16. P. 291–298.
22. *Welte K., Gabrilove J., Bronchud M.H. et al.* Fulgrastime (r-metHuG-CSF): the first 10 years // *Blood.* Vol. 88. 1996. P. 1907–1929.
23. *Martinez C., Sureda A., Martino R. et al.* Efficient peripheral blood stem cell mobilization with low-dose G-CSF (50 mcg/m²) after salvage chemotherapy for lymphoma // *Bone Marrow Transplant.* 1997. Vol. 20. P. 855–858.
24. *Kinsey S.E., Williams D., Will A., Morland B., Kohler J., Vora A.* Results of a randomized double blind dose ranging study of Lenograstim (rHuG-CSF) for the mobilisation of PBSC in children with solid tumors // *Med. Pediatr. Oncol.* 1998. Vol. 21 (Suppl. 1). P. 190.
25. *Hoglund M., Smedmyr B., Simonsson B. et al.* Dose-dependent mobilization of haematopoietic progenitor cells in healthy volunteers receiving glycosylated rHuG-CSF // *Bone Marrow Transplant.* 1996. Vol. 18. P. 19–27.
26. *Weaver C.H., Hazelton B., Birch R. et al.* An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy // *Blood.* Vol. 86. 1995. P. 3961–3969.
27. *Kulkarni S., Powles R., Treleaven J. et al.* Comparison of equal doses of lenograstim and filgrastim for mobilization of peripheral blood stem cells in patients with haematologic malignancies // *Med. Pediatr. Oncol.* 1998. Vol. 21 (Suppl. 1). P. 196.
28. *Lefrère F., Bernard M., Audat F., Cavazzana-Calvo M., Belanger C., Hermine O., Arnulf B., Buzyn A., Varet B.* Comparison of lenograstim vs filgrastim administration following chemotherapy for peripheral blood stem cell (PBSC) collection: a retrospective study of 126 patients // *Leuk. Lymphoma.* Vol. 35. 1999. № 5–6. P. 501–505.
29. *Tricot G., Jagannath S., Vesole D. et al.* Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients // *Blood.* Vol. 85. 1995. P. 588–596.
30. *Socinski M.A., Cannistra S.A., Elias A., Antman K.H., Schnipper L., Griffin J.D.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expands the circulating hematopoietic progenitor cell compartment in humans // *Lancet.* 1988. Vol. 1. P. 1194–1198.
31. *Kanold J., Hall P., Rapatel C. et al.* Efficient and safe of PBSC collection in children // *Med. Pediatr. Oncol.* 1996. Vol. 4. P. 249.



32. Urban C., Schwinger W., Beresch M. et al. Feasibility of peripheral blood stem cell and peripheral blood mononuclear cell separation in children with a body weight below 20 kg // *Med. Pediatr. Oncol.* 1997. Vol. 29. P. 115–120.
33. Takaue Y., Kawano Y., Abe T. et al. Collection and transplantation of peripheral blood stem cells in very small children weighing 20 kg or less // *Blood.* Vol. 86. 1995. № 1. P. 372–380.
34. Emminger W., Emminger-Schmidmeier W., Höcker P. et al. The median daily increment of leukocytes during hematopoietic recovery reflects the myeloid progenitor cell yield during leukapheresis in children // *Bone Marrow Transplant.* Vol. 5. 1990. № 6. P. 419–424.
35. Fernandez J.M., Shepherd V., Millard J., Powles R., Pinkerton C.R. When is the optimum time to harvest peripheral blood stem cells in children following standard dose of chemotherapy? // *Med. Pediatr. Oncol.* 1993. Vol. 21. P. 465–469.
36. Siena S., Bregni M., Brando B. et al. Flow cytometry for clinical estimation of circulating hematopoietic progenitors for autologous transplantation in cancer patients // *Blood.* Vol. 77. 1991. P. 400–409.
37. Bensinger W., Appelbaum F., Rowley S., Storb R., Sanders J., Lilleby J., Gooley T., Demirer T. et al. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells // *J. Clin. Oncol.* Vol. 13. 1995. № 10. P. 2547–2555.
38. Boogaerts M., Cavalli F., Cortes-Funes H. et al. Granulocyte growth factors: achieving a consensus // *Ann. Oncol.* 1995. Vol. 6. P. 237–244.
39. Soutar R., Gilmour S., Morrisson M. et al. The use of CD34 counts to predict the success of stem cell collections // *Bone Marrow Transplant.* 1998. Vol. 21 (Suppl. 1). P. 188.
40. Watts M.J., Sullivan A.M., Jamieson E. et al. Progenitor-cell mobilization after low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor, an analysis of progenitor-cell quantity and quality and factors predicting for these parameters in 101 pretreated patients with malignant lymphoma // *J. Clin. Oncol.* 1997. Vol. 15. P. 535–546.
41. Linch D. Activity in clinical settings: comparison of PBPC mobilization with different rG-CSFs in patients with lymphoma // *Int. J. Hematol.* 1996. Vol. 64 (Suppl. 2). P. 29.
42. Hoglund M. Glycosylated and non-glycosylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF): what is the difference? // *Med. Oncol.* 1998. Vol. 15. P. 229–233.

И.С. ДОЛГОПОЛОВ

Современные препараты в терапии инвазивных микозов в детской онкогематологии

1. McNeil M., Nash S., Hajjeh R. et al. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980–1997 // *Clin. Infect. Dis.* 2001. Vol. 33. P. 641–647.
2. Edmond M., Wallace S., McClish D. et al. Nosocomial bloodstream infections in United States Hospitals: a three-year analysis // *Clin. Infect. Dis.* 1999. Vol. 29. P. 239–244.
3. Kontoyiannis D., Mantadakis E., Samonis G. Systemic mycosis in the immunocompromised host: an update in antifungal therapy // *J. Hosp. Infect.* 2003. Vol. 53. P. 243–258.
4. Yamazaki T., Kume H., Murase S., Yamashita E., Arisawa M. Epidemiology of visceral mycosis: analysis of data in annual of the pathological autopsy cases in Japan // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 1732–1738.
5. Baddley J.W., Stroud T.P., Salzman D., Pappas P.G. Invasive mold infections in allogeneic bone marrow transplant recipients // *Clin. Infect. Dis.* 2001. Vol. 32. P. 1319–1324.
6. Kao A., Brandt M., Pruitt W. et al. The Epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance // *Clin. Infect. Dis.* 1999. Vol. 29. P. 1164–1170.
7. Denning D. Invasive aspergillosis // *Clin. Infect. Dis.* 1998. Vol. 26. P. 781–805.
8. Viscoli C., Girmenia C., Marinus L. et al. Candidemia in cancer patients: a prospective multicenter surveillance study by the invasive fungal infection group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) // *Clin. Infect. Dis.* 1999. Vol. 28. P. 1071–1080.
9. Pfaller M.A., Diekema D.J., Gibbs D.L. and the Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10,5-year analysis of susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion // *J. Clin. Microbiol.* 2010. Vol. 48. P. 1366–1377.
10. Lin S., Schranz J., Teutsch S. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature // *Clin. Infect. Dis.* 2001. Vol. 32. P. 358–366.
11. Pappas P.G., Rex J.H., Lee J. et al. A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients // *Clin. Infect. Dis.* 2003. Vol. 37. P. 634–643.
12. Rodriguez-Nunez A. Incidence and mortality of proven invasive *Candida* infections in pediatric intensive care patients // *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2001. Vol. 22. P. 477–478.
13. Walmsley S., Devi S., King S. et al. Invasive *Aspergillus* infections in a pediatric hospital: a ten-year review // *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1993. Vol. 12. P. 673–682.
14. Abbasi S., Shenep J.L., Hughes W.T., Flynn P.M. Aspergillosis in children with cancer: a 34-year experience // *Clin. Infect. Dis.* 1999. Vol. 29. P. 1210–1219.
15. Krupova Y., Sejnova D., Dzatkova J. et al. Prospective study on fungemia in children with cancer: analysis of 35 cases and comparison with 130 fungemias in adults // *Support Care Cancer.* 2000. Vol. 8. P. 427–430.
16. Neely M., Jafri H.S., Seibel N. et al. Pharmacokinetics and safety of caspofungin in older infants and toddlers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009. Vol. 53. P. 1450–1456.
17. Walsh T.J., Adamson P., Seibel N. et al. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of caspofungin in children and adolescents // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005. Vol. 49. P. 4536–4545.
18. Zaoutis T.E., Jafri H.S., Huang L.M. et al. A prospective, multicenter study of caspofungin for the treatment of documented *Candida* or *Aspergillus* infections in pediatric patients // *Pediatrics.* 2009. Vol. 123. P. 877–884.
19. Pfaller M., Messer S., Hollis R. et al. Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of *Aspergillus*