

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 02.04.2020
Принята к печати 06.05.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-152-159

Аферез гемопоэтических стволовых клеток крови у детей с экстремально низкой массой тела, как это делаем мы: опыт НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева

Е.Е. Курникова, И.Г. Хамин, В.В. Шукин, Т.В. Шаманская, М.С. Фадеева, Д.Е. Першин, П.Е. Трахтман

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Курникова Елена Евгеньевна,
врач-трансфузиолог отделения
трансфузиологии, заготовки и
процессинга гемопоэтических стволовых
клеток ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия
Рогачева» Минздрава России.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: elena.kurnikova@fccho-moscow.ru

Полихимиотерапия, сопровождающаяся аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК), способна улучшить результаты долгосрочной выживаемости пациентов с онкологическими и некоторыми неонкологическими заболеваниями. Осуществление мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток у детей с очень низкой массой тела может оказаться сложновыполнимой задачей. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В исследование включены 19 детей с экстремально низкой массой тела. Медиана возраста составила 8 (5–14) мес, медиана массы тела – 7,5 (5,8–8,8) кг. Аферезы выполняли в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии с применением седативных препаратов и с соблюдением условий профилактики анемии, гиповолемии, гипотермии. Было выполнено 19 аферезов гемопоэтических стволовых клеток с применением программы MNC сепаратора Spectra Optia. Проводили мобилизацию CD34⁺-клеток филграстимом, 3 детям дополнительно назначали плериксафор. Все 19 аферезов гемопоэтических стволовых клеток были успешны: медиана полученных доз клеток CD34⁺-клеток составила $18,7 \times 10^6/\text{кг}$ ($8,6\text{--}60,6 \times 10^6/\text{кг}$), медиана продолжительности афереза – 204 (161–351) мин. Случаев развития серьезных побочных явлений во время афереза не зафиксировано, однако у 6 (31%) детей мы столкнулись со сложностями в процессе установки венозного доступа. Осуществление сбора гемопоэтических стволовых клеток для проведения в дальнейшем высокодозной химиотерапии с ауто-ТГСК является выполнимой задачей даже для очень маленьких детей с экстремально низкой массой тела. Правильная подготовка к манипуляции, учет всех возможных факторов риска и технических особенностей позволяют избежать серьезных осложнений.

Ключевые слова: гемопоэтические стволовые клетки, мобилизация, аферез, плериксафор, педиатрические пациенты, низкая масса тела

Курникова Е.Е. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (2): 152–159.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-152-159

Apheresis of peripheral blood stem cells in children with very low body weight: a single centre experience

E.E. Kurnikova, I.G. Khamin, V.V. Shchukin, T.V. Shamanskaya, M.S. Fadeeva, D.E. Pershin, P.E. Trakhtman

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation

Polychemotherapy, accompanied by autologous hematopoietic stem cell transplantation, can improve the results of long-term survival of patients with cancer and some non-cancer diseases. Mobilizing and collecting hematopoietic stem cells in children with very low body weight can be a difficult task. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology. 19 children with extremely low body weight was included in the current study. The median age was 8 (5–14) months, the median of body weight 7.5 (5.8–8.8) kg. Apheresis was performed in an ICU, using sedative therapy and in compliance with the conditions for the prevention of anemia, hypovolemia, hypothermia. 19 hematopoietic stem cell apheresis were performed using the Spectra Optia MNC separator program. Mobilization of CD34⁺ cells was performed with filgrastim; three children were additionally given plerixafor. All 19 hematopoietic stem cell apheresis were successful: the median of collected CD34⁺ cells was $18.7 \times 10^6/\text{kg}$ ($8.6\text{--}60.6 \times 10^6/\text{kg}$), the median apheresis duration was 204 (161–351) min. Serious side effects during apheresis were not recorded, however, in 6 children (31%) we encountered difficulties in the process of installing central venous access. The collection of hematopoietic stem cells for the future high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cells is a feasible task even for very young children with extremely low body weight. Correct preparation for manipulation, taking into account all possible risk factors and technical features, can avoid serious complications.

Key words: hematopoietic stem cells, mobilization, apheresis, plerixafor, pediatric, low-weight

Kurnikova E.E., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (2): 152–159.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-152-159

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 02.04.2020

Accepted 06.05.2020

Correspondence:

Elena E. Kurnikova, Hematologist
Department of Pediatric Hematology,
Oncology, Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology, Immunology
Ministry of Healthcare of Russian
Federation.
Address: Russia, 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: elena.kurnikova@fccho-moscow.ru

Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) в наши дни включена в стандарты терапии множества онкологических и неонкологических заболеваний в педиатрии, таких как солидные опухоли, опухоли центральной нервной системы, аутоиммунные заболевания. Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) периферической крови (ПК) заменили костный мозг как основной источник клеток-предшественников для ауто-ТГСК и все чаще используются для проведения аллогенных и гаплоидентичных трансплантаций ГСК (ТГСК) [1–4]. Сложность проведения лейкаферезов у очень маленьких детей (с массой тела менее 9 кг) связана со многими техническими и клиническими факторами, такими как крайне низкий объем циркулирующей крови (ОЦК) и относительно большой объем экстракорпорального контура, связанный с этим риск гиповолемических нарушений и гипотермии; антикоагуляция и сложность распознавания цитратной токсичности; поведенческие и коммуникативные особенности; необходимость адекватного сосудистого доступа и сложность этой задачи в связи с анатомическими особенностями малышей [5–7]. Цитратная токсичность (один из нежелательных побочных эффектов афереза) у маленьких детей проявляется гораздо тяжелее, чем у взрослых и может носить жизнеугрожающий характер. Существующие в педиатрии протоколы химиотерапии (ХТ) и предтрансплантационной подготовки зачастую требуют сбора большого количества CD34⁺-клеток, что оставляет необходимость оптимизации мобилизации ГСК, проведения аферезов увеличенного объема, чтобы снизить количество процедур [7–9]. В настоящем обзоре мы хотим рассказать о нашем опыте мобилизации и проведения аферезов ГСК у пациентов с экстремально низкой массой тела, собранном в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России за период с апреля 2012 г. по январь 2020 г. включительно.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Был проведен ретроспективный анализ результатов мобилизации и аферезов периферических стволовых клеток крови у детей с очень низкой массой тела за период с апреля 2012 г. по январь 2020 г. включительно.

Пациенты. Была выделена группа из 19 детей с массой тела менее 9 кг. Медиана возраста составила 8 (5–14) мес, медиана массы тела – 7,5 (5,8–8,8) кг. Характеристики пациентов представлены в таблице 1.

Таблица 1
Характеристика пациентов

Table 1
Patient characteristics

| Параметр Parameter | Значение Value |
|--|-------------------|
| Число пациентов, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i> | 19 |
| Пол (мальчики/девочки) Gender (male/female) | 8/11 |
| Медиана возраста (разброс), мес Age, median (range), months | 8 (5–14) |
| Медиана массы тела (разброс), кг Body weight, median (range), kg | 7,5 (5,8–8,8) |
| Медиана ОЦК (разброс), мл TBV, median (range), ml | 750 (520–880) |
| Число пациентов с нейробластомой, <i>n</i> Patients with neuroblastoma, <i>n</i> | 18 |
| Число пациентов с герминогенно-клеточной опухолью, <i>n</i> Patients with Germ cell tumor, <i>n</i> | 1 |

Notes. TBV – total blood volume.

Мобилизация. Мобилизацию CD34⁺-клеток начинали на фоне восстановления кроветворения после проведенного блока ХТ согласно протоколу лечения. Медиана количества блоков перед аферезом – 3 (2–6). Критерий старта мобилизации – прирост числа лейкоцитов выше 1×10^6 /мл, восстановление тромбоцитарного роста во внимание не принималось. Для мобилизации использовали гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) филграстим (Лейкостим, ЗАО «Биокад», Россия; Зарсио, Ай Ди Ти Биология ГмБХ, Германия) в стандартной дозе 10 мкг/кг в день, который вводили подкожно в утренние часы. Мониторинг числа CD34⁺-клеток в ПК проводили ежедневно, начиная с 3-го дня стимуляции, последний контроль – в день афереза. Если к 5-му дню от начала стимуляции количество CD34⁺-клеток в ПК было меньше 20 кл/мкл, то к мобилизации добавляли плериксафор (Мозобаил, Джензайм Лтд, Великобритания) в дозе 0,24 мг/кг подкожно за 10 ч до афереза. Последняя доза Г-КСФ в день афереза вводилась за 2–4 ч до его начала.

Аферезы гемопоэтических стволовых клеток. Аферез планировали на следующий день после фиксации выброса CD34⁺-клеток в ПК > 20 кл/мкл (4–6-й день от начала стимуляции). Накануне афереза производили установку центрального венозного катетера (ЦВК). Всем детям перед установкой ЦВК проводили доплерографическое исследование бедренных сосудов, благодаря которому подбирали катетер оптимального размера. Для проведения аферезов у очень маленьких детей в нашем Центре используются двухканальные катетеры Certofix 5Fr (BBraun Melsungen AD, Melsungen, Germany), GamCath 6,5 Fr (Gambro Katheter Technik Hochingen, Hochingen, Germany) или 2 одноканальных катетера Certofix 18G (если из-за недоста-

точного диаметра вен установка двухканального ЦВК была невозможна) – бедренный доступ для забора крови, а ранее установленный подключичный – для возврата. Оптимально наличие 3 каналов для сосудистого доступа (2 для непосредственного обеспечения афереза и отдельный канал для инфузионной терапии). ЦВК никогда не устанавливали до получения удовлетворительного результата CD34⁺-клеток, чтобы исключить ненужную инвазивную манипуляцию у детей, проваливших данную попытку мобилизации; преждевременная установка также нежелательна из-за повышения риска осложнений катетеризации.

Аферезы ГСК детям с низкой массой тела проводили в отделении реанимации и интенсивной терапии в комфортных условиях в присутствии матерей. В целях профилактики гипотермии применялись устройства, поддерживающие температуру тела пациента Dräger Caleo SW 2.n (Dräger Medical AG&Co.KG, Lübeck, Germany) и Equator EQ-5000 (Smiths Medical ASD Inc, Rockland, MA, USA), подогреватель крови возвратной линии S-line Barkey (Barkey GmbH&Co.KG, Gewerbestr., Germany). Осуществляли постоянный мониторинг электрокардиограммы, артериального давления, оксигенации. Большинству маленьких пациентов требовалась седативная терапия для обеспечения адекватности процедуры – пропופол в дозе 1–1,5 мг/кг/ч.

Экстракорпоральный контур сепаратора заполнялся единицей донорской, облученной в дозе 25Гр, лейкофильтрованной, эритроцитной взвеси. Накануне афереза обязательно проводили биологическую пробу с 50 мл эритроцитной взвеси из подобранной единицы. Разведение эритроцитной взвеси физиологическим раствором натрия хлорида для достижения гематокрита, близкого к гематокриту ребенка, выполняли в том случае, если для проведения афереза были установлены катетеры Certofix (из-за их маленького внутреннего диаметра).

Требования к гемограмме перед аферезом: минимальный допустимый уровень тромбоцитов составляет $50 \times 10^6/\text{мл}$, гемоглобина – выше 90 г/л. При необходимости проводили трансфузионную поддержку.

Лейкаферезы выполняли с применением программы сбора мононуклеаров на сепараторе Spectra Optia, программное обеспечение версий 6, 9 и 11 (Terumo BCT Inc, Lakewood, CO, USA). В качестве антикоагулянта использовали цитрат декстрозы, формула А (ACD-A, Haemonetics®, Haemonetics Corp, Massachusetts, USA). Особенностью этой программы является лимит скорости потока не менее 10 мл/мин. С учетом наличия ряда дефолтных параметров, существующих как для безопасности пациента, так и для сохранения работоспособности системы (скорость введения цитрата в пациента и соотношение крови и цитрата в контуре) и взаимосвязанности этих пара-

метров, выбирается оптимальное их сочетание для достижения скорости потока не менее 10 мл/мин. Шаг 1 – соотношение крови и цитрата в контуре 15:1; шаг 2 – поэтапное увеличение скорости введения цитрата в пациента, но не более 1,2 мл/л ОЦК/мин. Если этих шагов недостаточно и скорость потока забора все еще остается ниже 10 мл/мин, продолжается постепенное увеличение скорости введения цитрата в пациента до достижения целевой скорости, но имея в виду риск тяжелой цитратной токсичности для пациента. В таких случаях проводили профилактическую инфузию глюконата кальция.

Целевая доза CD34⁺-клеток для каждой успешной ауто-ТГСК – $5 \times 10^6/\text{кг}$. Достаточной дозой CD34⁺-клеток для ауто-ТГСК после мобилизации с плериксафором считается $3 \times 10^6/\text{кг}$. Субоптимальной дозой CD34⁺-клеток для каждой ТГСК является 2–4 $\times 10^6/\text{кг}$. Согласно протоколу лечения пациентам с герминогенно-клеточной опухолью планировалось до 3 ауто-ТГСК, с медуллобластомой – 2. Если уровень мобилизации больного был хорошим и не возникало никаких технических или клинических препятствий, то для всех пациентов с нейробластомой собирались клетки на 2 клеточные поддержки за 1 аферез (т. е. CD34⁺-клеток $\geq 10 \times 10^6/\text{кг}$). Повторный аферез для пациентов с нейробластомой рассматривался только если доза CD34⁺-клеток после первого афереза была меньше $5 \times 10^6/\text{кг}$.

Для достижения таких результатов часто требуется проведение афереза большего объема, чем стандартный. В зависимости от продолжительности аферезов мы условно разделили их на группы: стандартный аферез (SVA) – не более 2,0 обработанных ОЦК, средний аферез (MVA) – 2,1–2,99 обработанных ОЦК, аферез большого объема (LVA) – 3,0–4,99 обработанных ОЦК.

Лабораторные методы. Для определения количества стволовых CD34⁺-клеток в образцах ПК и продукте афереза в нашем Центре используется протокол исследования ISHAGE (International Society of Hemotherapy and Graft Engineering) [10]. Абсолютное количество CD34⁺-клеток вычисляли двухплатформенным методом: умножением процентного значения количества стволовых клеток и абсолютного количества лейкоцитов, полученных на проточном цитометре (BD FACS Canto TM II, Becton-Dickinson, New Jersey, USA) и гематологическом анализаторе (Sysmex XS800i, SYSMEX Corporation, Kobe, Japan) соответственно. Количество ГСК определяли по экспрессии мембранных маркеров CD34 и CD45 в реакции прямой иммунофлуоресценции с моноклональными антителами, меченными фикоэритрином и флуоресцеинизотиоцианатом (Becton-Dickinson, New Jersey, USA). Окрашивание первично

меченными моноклональными антителами осуществляли согласно инструкции производителя. После инкубации клеток с антителами в суспензию добавляли раствор, лизирующий эритроциты (FACS Pharm Lyse, BD), затем отмывали фосфатно-солевым буфером (Cell Wah, BD).

Расчет эффективности сбора (CE2). Для оценки эффективности сбора CD34⁺-клеток использовали показатель CE2, вычислявшийся по ранее описанной формуле [11]:

$CE2 (\%) = (CD34^+/\text{мл продукта} \times V \text{ продукта}) / (CD34^+ \text{ до афереза} \times \text{обработанный ОЦК})$.

Статистический анализ. Унивариантный статистический анализ выполнен с применением программы XL Stat.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего за указанный промежуток времени в нашем Центре было выполнено 20 попыток мобилизации для 19 пациентов с экстремально низкой массой тела. Первая попытка мобилизации у

одного ребенка была успешной, но не завершилась аферезом из-за серьезной травмы сосуда при катетеризации. Вторая попытка после следующего блока ХТ была успешной, и аферез состоялся. Всем пациентам требуемую для ауто-ТГСК дозу клеток удалось собрать за 1 аферез и повторных не потребовалось.

Было проведено 19 аферезов ГСК у 19 пациентов. Медиана количества блоков предшествующей ХТ – 3 (2–6), медиана количества дней от начала последнего блока ХТ до начала мобилизации – 19 (12–22). Большинству пациентов для мобилизации CD34⁺-клеток было достаточно препаратов Г-КСФ, 3 (16%) из 19 пациентов к мобилизации был добавлен плериксафор. Дата старта мобилизации одному пациенту в группе моно-Г-КСФ была определена неверно, из-за чего был упущен пик мобилизации, аферез состоялся на 6-й день, но все равно было достаточно CD34⁺-клеток. У 6 (32%) из 19 детей аферез состоялся на 4-й день от начала мобилизации, у 9 (47%) – на 5-й, у 4 (21%) – на 6-й день.

Не удалось установить двухканальный ЦВК 9 детям, и аферез выполняли через 2 одноканальных катетера (предустановленный подключичный и дополнительный бедренный доступ).

Таблица 2
Основные характеристики результатов мобилизации и аферезов

Table 2
The main characteristics of the results of mobilization and apheresis

| Параметр Parameter | Моно-Г-КСФ G-CSF alone n = 16 | Г-КСФ + плериксафор G-CSF + plerixafor n = 3 |
|--|-------------------------------------|--|
| Лейкоциты в ПК накануне афереза, × 10 ⁶ /мл WBC day before apheresis, median (range), ×10 ⁶ /ml | 10,8 (3,3–47) | 14,7 (10,8–48) |
| CD34 ⁺ в ПК накануне афереза, % CD34 ⁺ day before apheresis, median (range), % | 0,77 (0,07–2,5) | 0,13 (0,03–0,17) |
| CD34 ⁺ в ПК накануне афереза, кл/мкл CD34 ⁺ day before apheresis, median (range), cells/μL | 70 (22–508) | 18 (13–19) |
| Лейкоциты в ПК в день афереза, × 10 ⁶ /мл WBC apheresis day, median (range), × 10 ⁶ /ml | 21 (6–55) | 31 (24–53) |
| CD34 ⁺ в ПК в день афереза, % CD34 ⁺ apheresis day, median (range), % | 0,87 (0,09–3,1) | 0,14 (0,1–0,36) |
| CD34 ⁺ в ПК в день афереза, кл/мкл CD34 ⁺ apheresis day, median (range), cells/μL | 166 (34–451) | 51 (43–89) |
| Прирост CD34 ⁺ в ПК, кл/мкл CD34 ⁺ Increment, median (range), cells/μL | 61 (12–318) | 38 (26–70) |
| Кратность увеличения CD34 ⁺ Increment CD34 ⁺ fold, median (range) | 1,9 (1,1–13,5) | 3,8 (2,4–4,7) |
| Уменьшение CD34 ⁺ , кл/мкл Decrease of CD34 ⁺ , median (range), cells/μL | 234 (n= 1) | – |
| Обработано ОЦК TBV processed, median (range) | 2,45 (2–4,3) | 3,2 (2,7–3,7) |
| Продолжительность афереза, мин Apheresis duration, median (range), min | 208 (161–351) | 204 (157–284) |
| Эффективность сбора (CE2), % collection efficiency (CE2), median(range), % | 57 (29–97) | 40 (33–81) |
| Абсолютное количество нуклеаров, × 10 ⁹ TNC, median (range), × 10 ⁹ | 10,4 (6,8–22,5) | 11,5 (8–13,5) |
| CD34 ⁺ в продукте афереза, % CD34 ⁺ in apheresis product, median(range), % | 1,6 (0,56–4,35) | 0,48 (0,43–0,62) |
| CD34 ⁺ в продукте афереза, × 10 ⁶ CD34 ⁺ in apheresis product, median (range), × 10 ⁶ | 148 (64–497) | 55 (50–58) |
| Доза CD34 ⁺ , × 10 ⁶ /кг CD34 ⁺ , median (range), × 10 ⁶ /kg | 18,9 (8,6–60,6) | 8,7 (7,4–9,2) |

Notes. WBC – white blood cell; TNC – total nuclear cells; G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor.

Основные данные результатов мобилизации и аферезов приведены в *таблице 2*.

В качестве седативной терапии для первого из этих детей был выбран дормикум, качество такой седации нас не устроило, в дальнейшем мы применяли пропופол. Троицким детям аферез выполнен без седативной терапии.

До и после афереза контролировались уровни электролитов и глюкозы, кислотно-щелочное состояние и общий анализ крови. На протяжении всего афереза проводили мониторинг электрокардиограммы, оксигенации, артериального давления и термометрии.

В 85% случаев аферез выполнялся в полуавтоматическом режиме. Медиана скорости потока забора крови 10 (10,0–11,7) мл/мин, скорости введения ACD в пациента 1,1 (0,9–1,5) мл/л ОЦК/мин, содержания ACD в системе 12:1 (10:1–15:1) – неадекватная коагуляция в системе, потребовавшая увеличения ACD в системе до 10:1, отмечена только у 1 пациента. С 2019 г. для профилактики повышенной коагуляции в системе мы используем комбинацию ACD + гепарин.

При том, что целевым значением дозы CD34⁺-клеток для каждого ребенка стало 10×10^6 /кг, распределение «объемности» аферезов для обеспечения такого результата было следующим: SVA – 2 пациента, MVA – 11, LVA – 3.

Трансфузии тромбоцитного концентрата перед аферезом требовались 5 детям. После завершения афереза была отмечена деплеция тромбоцитов в ПК, но трансфузии не потребовались. Частичный возврат крови выполнен 7 из 19 детей. Только у 3 пациентов отмечалось небольшое снижение гематокрита максимум на 3,6%, у остальных детей данный показатель после афереза остался стабильным. Среди тех, кому был выполнен возврат крови, падения гематокрита не отмечено.

Побочные эффекты. Токсичность мобилизации Г-КСФ была отмечена у 2 (10%) детей – повышение температуры до фебрильных цифр на фоне хорошего самочувствия. Дополнительной токсичности после введения плериксафора у 3 детей не отмечено.

У 6 детей зафиксировано 8 событий, связанных с установкой ЦВК: клинически значимая травма сосуда, из-за которой аферез был отменен и успешно выполнен после следующего блока ХТ, – 1; неоднократная пункция сосуда – 4; пункция одноименной артерии – 2; развитие гематомы – 1.

Технические сложности, связанные с работой катетера, требовавшие коррекции позиции ЦВК, зафиксированы в 1 случае. Неадекватная коагуляция в коннекторе – 1. Цитратная токсичность – 0.

Снижение уровня тромбоцитов после афереза не было клинически значимым и не препятствовало

удалению ЦВК (минимум 40×10^9 /л, медиана 123×10^9 /л).

После афереза не было зафиксировано ни одного случая клинически значимого снижения уровня гематокрита и гемоглобина.

Умеренные электролитные нарушения, требовавшие коррекции после завершения афереза, отмечены у 3 детей: гипокалиемия до 2,7 ммоль/л и снижение уровня ионизированного кальция до 1,02 ммоль/л.

Не было зафиксировано ни одного случая клинически значимых гемодинамических, дыхательных нарушений, гипотермии, осложнений трансфузий эритроцитов или других осложнений лейкоаферезов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение терапевтических аферезов у маленьких детей, аферезов ГСК в частности, потенциально связано с большим риском возникновения осложнений из-за особенностей педиатрических пациентов [12]. Наиболее тяжелые осложнения, с которыми можно столкнуться, это гиповолемия, гипотензия, анемический синдром, гипотермия, цитратная токсичность [1, 12, 13]. Симптомы цитратной токсичности у детей отличаются от таковых у взрослых. Это может быть боль в животе, рвота, бледность, беспокойство, тахикардия, брадикардия, гипотензия. Причем гипотензия может быть первым симптомом гипокальциемии у маленьких детей. Поэтому дифференциальная диагностика осложнений афереза у самых маленьких детей может вызывать затруднения и требует опыта. Так как клинические проявления осложнений афереза у маленьких детей неспецифические и схожи между собой, могут протекать очень тяжело, с нарушениями сердечно-легочной деятельности, стоит проводить их в отделении реанимации и интенсивной терапии с постоянным мониторингом витальных показателей. Помимо этих факторов, беспокойное поведение ребенка может стать серьезным препятствием эффективного проведения процедуры и значительно затруднить оценку состояния пациента. Облегчить проведение манипуляции может седативная терапия [14]. Проведение адекватной седативной терапии также возможно только в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии. Продолжительность афереза у таких маленьких детей должна быть как можно меньше из-за кумулятивного риска цитратной токсичности и сложности поддержания седации.

Чтобы собрать необходимое количество CD34⁺-клеток за 1 аферез, продолжительность которого будет не более 4 ч, стоит уделить внимание и качеству мобилизации. Решение проблемы эффективной мобилизации остается важным аспектом для

обеспечения пациентов качественным клеточным продуктом для трансплантации. Роль оптимальной тактики мобилизации и выбора оптимального дня для старта афереза сложно недооценить. В настоящее время существуют различные режимы мобилизации гемопоэтических клеток-предшественников, включающие комбинации ХТ и Г-КСФ, моно-Г-КСФ, комбинации различных ростовых факторов. Настоящим прорывом в решении проблемы плохой мобилизации CD34⁺-клеток стало появление плериксафора [15]. Многие институты разрабатывают собственные алгоритмы мобилизации, позволяющие снизить количество попыток мобилизации и аферезов, улучшить качество мобилизации стволовых клеток с наименьшими финансовыми затратами [15–17].

Мобилизация ГСК в нашем Центре начинается на фоне восстановления гемопоэза после проведенного блока ХТ согласно протоколу лечения. На 3–4-й день от начала мобилизации (через 2–3 введения Г-КСФ в дозе 10 мкг/кг в день) мы начинали контролировать число CD34⁺-клеток в ПК. На 4-й день от начала мобилизации аферез был запланирован тем детям, у которых при первом контроле на 3-й день был отмечен выброс CD34⁺-клеток в ПК выше 50 кл/мкл (медиана 91 (57–273) кл/мкл). Если и к 5-му дню от начала мобилизации число CD34⁺-клеток в ПК было < 20 кл/мкл, то к мобилизации добавляли плериксафор. Доза CD34⁺-клеток, которую возможно собрать за 1 аферез, находится в прямой зависимости от числа CD34⁺-клеток в ПК, продолжительности афереза и качества (эффективности) сбора. Имея желание провести максимально короткий аферез, зачастую не имея возможности влиять на эффективность сбора, оптимально стремиться к числу CD34⁺-клеток в день афереза 40 кл/мкл и более.

Установка адекватного сосудистого доступа в детской практике также требует навыков и лимитирует возможность выполнения афереза. За период с апреля 2012 г. по январь 2020 г. включительно в нашем Центре проведено 19 аферезов ГСК у 19 детей с массой тела менее 9 кг. Наиболее значимой проблемой, с которой мы столкнулись при подготовке детей к аферезу, стали осложнения, связанные с установкой дополнительного ЦВК, – зафиксированы у 6 (31%) пациентов. Наиболее тяжелым осложнением была травма внутренней яремной вены, из-за которой был отменен аферез. Избежать значительно большего количества осложнений катетеризации позволяет доплерографическое исследование сосудов, благодаря которому анестезиолог может подобрать оптимальный по размеру ЦВК. Мы не отводим большой роли проблеме рециркуляции крови между каналами и предпочитаем использовать для афереза двухканальные катетеры без обяза-

тельного использования альтернативного доступа для линии возврата крови [7, 18, 19]. Но наличие 3-го канала сосудистого доступа оптимально для параллельного введения медикаментов.

Для обеспечения качественной седативной терапии нет единых рекомендаций – могут применяться различные препараты, одобренные в педиатрической практике. F. Ravagnani и соавт. [14] опубликовали интересные данные об использовании общей анестезии для обеспечения аферезов ГСК в группе компрометированных педиатрических пациентов ($n = 47$). Для детей до 3 лет была использована комбинация пропофол + фентанил + панкуроний, затем анестезию поддерживали севофлураном через эндотрахеальную трубку. Для детей старше 3 лет использовали комбинацию пропофол + фентанил, поддерживали пропофолом на фоне оксигенотерапии с применением ларингеальной маски. Авторами не было зафиксировано побочных эффектов, связанных с анестезией при продолжительности аферезов от 128 до 220 мин, медиана 170 мин. Было отмечено только 2 технические проблемы, из-за которых потребовались повторные аферезы – невозможность обеспечить адекватный поток крови в одном случае и коагуляция продукта афереза – в другом. Последнее осложнение было отнесено к применению пропофола, так как все другие возможные причины со стороны пациента были исключены. Мы не сталкивались с подобным явлением в нашей практике, но, справедливо говоря, применяемые нами дозы пропофола были значительно ниже. В целом мы поддерживаем идею, что применение седативной терапии необходимо для обеспечения эффективности и комфорта у очень маленьких детей, но для применения общей анестезии нужны особенно веские причины [20]. За все время применения пропофола в небольших дозах, не требующих оксигенотерапии или вспомогательной вентиляции, мы не сталкивались с клинически значимыми побочными эффектами, такая седация была эффективной и безопасной.

Для поддержания гемодинамической стабильности пациентов использовалось заполнение экстракорпорального контура сепаратора донорскими эритроцитами как с разведением физиологического раствора, так и без него. Мы ни разу не столкнулись с явлениями гиповолемии и гипотензии в течение процедур и после их окончания, не было зафиксировано ни одного случая анемии, потребовавшей трансфузии эритроцитов после афереза. Возможности сепаратора Spectra Optia позволяют легко оценить текущий баланс жидкостей, выполнить частичный возврат крови (40–50 мл), что позволяет извлечь дополнительную выгоду от заполнения контура донорскими эритроцитами без риска перегрузки маленького пациента объемом. Однако стоит отме-

тить позитивный опыт В. Cherqaoui и соавт., практикующих заполнение контура донорскими эритроцитами, только если экстракорпоральный контур превышает 40% ОЦК ребенка, что соответствует массе тела 6 кг при проведении афереза с помощью сепаратора Spectra Optia [21]. Желаемый уровень гемоглобина перед аферезом был 140 г/л. Авторами была отмечена хорошая переносимость процедур без каких-либо осложнений.

Как говорилось выше, особенностью программы сбора мононуклеарных клеток с помощью сепаратора Spectra Optia является лимит скорости потока крови 10 мл/мин. Минимальной дефолтной скоростью у пациента с самым низким ОЦК была 5,5 мл/мин. После изменения всех влияющих на скорость параметров в безопасных пределах, запрограммированных производителем, скорость потока все еще оставалась ниже 10 мл/мин и потребовалось изменение скорости инфузии антикоагулянта в пациента до 1,4 мл/л ОЦК/мин для обеспечения рабочей скорости. Именно из-за частой работы с максимальной или превышающей безопасные пределы скоростью введения цитрата в пациента дети с экстремально низкой массой тела находятся в зоне риска развития цитратной токсичности. Во многих медицинских центрах практикуются профилактическое введение кальция и других электролитов, мониторинг уровней калия, натрия, кальция и общего анализа крови в процессе афереза [11, 19, 20, 22]. Мы ограничились обязательным клиническим анализом крови и кислотно-щелочного состояния до и после афереза с коррекцией в случае отклонений от нормы. Об отсутствии необходимости профилактических инфузий кальция говорят и другие авторы [14]. До 40–45% ОЦК ребенка может находиться экстракорпорально, поэтому крайне важно использовать подогреватель крови для возвратной линии и согреть самого пациента.

Для достижения целевых значений ГСК в трансплантате часто требуется проведение афереза большего, чем стандартный. Аферезом большого объема считается тот, за время которого обрабатывается от 3 ОЦК. Исторически применение большеобъемных аферезов у детей началось с использованием сепараторов Cobe Spectra, позволяющих применять для антикоагуляции гепарин [7, 11, 18, 23]. При этом для антикоагуляции использовали смесь ACD-A и гепарина [1, 7, 13, 14, 18], скорость потока увеличивалась за счет изменения соотношения inlet:AC ratio до 18:1–30:1, что позволяло значительно увеличить скорость потока крови, сократить время афереза, снизить вероятность развития цитратных реакций. Проведение лейкаферезов на сепараторе Spectra Optia с помощью программы сбора мононуклеаров имеет ряд особенностей, нетипичных для сепаратора предыдущего поколения. Прежде всего, это неадекватная

антикоагуляция в контуре, которая может серьезно препятствовать поступлению слоя клеток в трубку сбора. При возникновении этого явления требуется изменить соотношение крови и цитрата в контуре – увеличить содержание ACD. Это явление встречается довольно часто, может требовать изменения соотношения крови и ACD до 10:1 или 8:1, что приводит к удлинению афереза (перерасчет безопасной дозы цитрата, поступающего в пациента и снижение скорости потока). Чтобы в таких условиях обеспечить скорость потока крови 10 мл/мин без большого превышения безопасных значений введения цитрата в пациента, с 2019 г. мы практикуем комбинированную антикоагуляцию ACD + гепарин, что не решает эту проблему полностью, но позволяет поддерживать соотношение крови и цитрата в контуре у маленьких детей 15:1–12:1. Существуют публикации о проведении аферезов большого объема на сепараторе Spectra Optia за счет увеличения скорости потока крови 2 способами. Первый – превышение рекомендованного максимального введения цитрата в пациента до 2,5 мл/л ОЦК/мин (установленный лимит 1,2 мл/л ОЦК/мин) и второй – изменение соотношения цитрата и крови в системе до 1:20 с болюсным введением внутривенно гепарина в дозе 100 Ед/кг [19]. Но в целом именно у очень маленьких детей выполнение аферезов большого объема не приводит к значительной пролонгации процедуры из-за необходимости увеличения скорости потока значительно выше дефолтной. И значительное увеличение продолжительности афереза связано, прежде всего, с низким числом CD34⁺-клеток в ПК и техническими проблемами.

Не так давно в России стала доступной опция реализации аферезов большого объема на сепараторе Spectra Optia, аналогичная выполнению на сепараторе Cobe Spectra. Это стало возможно после появления новой программы непрерывного сбора мононуклеаров с применением сета IDL. Но работа данной программы имеет ряд своих особенностей, и насколько она может быть подходящей для когорты детей с крайне низкой массой тела, пока неясно.

Проведя 19 аферезов очень маленьким детям, мы ни разу не столкнулись с возникновением тяжелых осложнений. О хорошей в целом переносимости аферезов с нетяжелыми осложнениями говорят и другие авторы [13, 21].

ВЫВОДЫ

Выполнение аферезов ГСК у детей с крайне низкой массой тела требует тщательного планирования и подготовки, может быть проведено в условиях, обеспечивающих максимальную безопасность процедуры для пациента и возможность момен-

тального оказания помощи. Эта задача выполнима, процедуры являются относительно безопасными. Побочные явления чаще всего сопряжены с техническими сложностями катетеризации таких маленьких пациентов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Kurnikova E.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4767-5382>

Khamin I.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8264-2258>

Shchukin V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7945-2565>

Shamanskaya T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3767-4477>

Fadeeva M.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6553-2505>

Pershin D.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-7209>

Trakhtman P.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0231-1617>

Литература

- Sevilla J., Gonzalez-Vicent M., Madero L., Diaz M.A. Peripheral blood progenitor cell collection in low-weight children. *J Hematother Stem Cell Res* 2002; 11 (4): 633–42.
- Diaz M.A., Kanold J., Vincent M.G., Halle P., Madero L., Deméocq F. Using peripheral blood progenitor cells (PBPC) for transplantation in pediatric patients: a state-of-art review. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26 (12): 1291–8.
- Watanabe T., Kawano Y., Watanabe A., Takaue Y. Autologous and allogeneic transplantation with peripheral blood CD34+ cells: a pediatric experience. *Haematologica* 199; 84 (2): 167–76.
- Baldomero H., Gratwohl M., Gratwohl A., Tichelli A., Niederwieser D., Madrigal A., Frauendorfer K.; European Group for Blood and Marrow Transplantation EBMT. The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46 (4): 485–501. DOI: 10.1038/bmt.2011.11
- Takaue Y., Kawano Y., Abe T., Okamoto Y., Suzue T., Shimizu T., et al. Collection and transplantation of peripheral blood stem cells in very small children weighing 20 kg or less. *Blood* 1995; 86 (1): 372–80.
- Delaney M., Copocelli K.E., Eder A.F., Schneiderman J., Schwartz J., Sloan S.R., et al. An international survey of pediatric apheresis practice. *J Clin Apher* 2014; 29 (2): 120–6. DOI: 10.1002/jca.21301
- Delgado J., Fernandez-Jimenez M.C., Martinez A., Sastre A., Garcia-Miguel P., Hernandez-Navarro F., Arrieta R. Analysis of factors affecting PBPC collection in low-weight children with malignant disorders. *Cytotherapy* 2004; 6(1): 43–9.
- Cecyn K.Z., Seber A., Ginani V.C., Gonçalves A.V., Caram E.M., Oguro T., et al. Large-volume leukapheresis for peripheral blood progenitor cell collection in low body weight pediatric patients: a single center experience. *Transfus Apher Sci* 2005; 32 (3): 269–74.
- Thorarindottir H.K., Rood B., Kamani N., Lafond D., Perez-Albuerne E., Loechecht B., et al. Outcome for children <4 years of age with malignant CNS tumors treated with high-dose chemotherapy and autologous stem cell rescue. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48 (3): 278–84.
- Sutherland D.R., Anderson L., Keeney M., Nayar R., Chin-Yee I. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *International Society of Hemotherapy and Graft Engineering. J Hematother* 1996; 5 (3): 213–26.
- Dubrovsky L., Wong E.C., Perez-Albuerne E., Loechecht B., Kamani N., Sande J., et al. CD34+ collection efficiency as a function of blood volumes processed in Pediatric autologous peripheral blood stem cell collection. *J Clin Apher* 2011; 26 (3): 131–7. DOI: 10.1002/jca.20281
- Michon B., Moghrabi A., Winikoff R., Barrette S., Bernstein M.L., Champagne J., et al. Complications of apheresis in children. *Transfusion* 2007; 47 (10): 1837–42.
- Sevilla J., Plaza S.F., Gonzalez-Vicent M., Las-saletta A., Ramirez M., Madero L., Diaz M.A. PBSC collection in extremely low weight infants: a single-center experience. *Cytotherapy* 2007; 9 (4): 356–61.
- Ravagnani F., Coluccia P., Notti P., Arienti F., Bompadre A., Avella M., et al. Peripheral blood stem cell collection in pediatric patients: feasibility of leukapheresis under anesthesia in uncompliant small children with solid tumors. *J Clin Apher* 2006; 21 (2): 85–91.
- Maschan A.A., Balashov D.N., Kurnikova E.E., Trakhtman P.E., Boyakova E.V., Skorobogatova E.V., et al. Efficacy of plerixafor in children with malignant tumors failing to mobilize a sufficient number of hematopoietic progenitors with G-CSF. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (8): 1089–91. DOI: 10.1038/bmt.2015.71
- Duong H.K., Savani B.N., Copelan E., Devine S., Costa L.J., Wingard J.R., et al. Peripheral blood progenitor cell mobilization for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20 (9): 1262–73. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.05.003
- Giralt S., Costa L., Schriber J., Dipersio J., Maziarz R., McCarty J., et al. Optimizing Autologous Stem Cell Mobilization Strategies to Improve Patient Outcomes: Consensus Guidelines and Recommendations. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20 (3): 295–308. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.10.013
- Liao Y.M., Yeh C.J., Shu H.L., Lin P.C., Chang T.T., Chiou S.S. Successful large-volume leukapheresis for hematopoietic stem cell collection in a very-low-weight brain tumor infant with coagulopathy. *Pediatr Neonatol* 2013; 54 (3): 211–3. DOI: 10.1016/j.pedneo.2013.03.007
- Sörensen J., Jarisch A., Smorta C., Köhl U., Bader P., Seifried E., Böning H. Pediatric apheresis with a novel apheresis device with electronic interface control. *Transfusion* 2013; 53 (4): 761–5. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2012.03823.x
- Sauer H., Roland H., Ulla L., Ortrud D., Jürgen F. Leukapheresis in children weighing less than 20 kg. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58 (4): 627–9. DOI: 10.1002/pbc.24048
- Cherqaoui B., Rouel N., Auvrignon A., Defachelles A.S., Deméocq F., Kanold J., Merlin E. Peripheral blood stem cell collection in low-weight children: retrospective comparison of two apheresis devices. *Transfusion* 2014; 54 (5): 1371–8.
- Humpe A., Riggert J., Munzel U., Köhler M. A prospective, randomized, sequential crossover trial of large-volume versus normal-volume leukapheresis procedures: effects on serum electrolytes, platelet counts, and other coagulation measures. *Transfusion* 2000; 40 (3): 368–74.
- Eid K.A., Miranda E.C., Aguiar Sdos S. Mobilization and collection of CD34+ cells for autologous transplantation of peripheral blood hematopoietic progenitor cells in children: analysis of two different granulocyte-colony stimulating factor doses. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2015; 37 (3): 160–6. DOI: 10.1016/j.bjhh.2015.02.006