

Канаева Мадина Лечиевна

**Субпопуляции CD34-позитивных гемопоэтических клеток-предшественниц в периферической крови и лейкоконцентрате больных гемобластозами при мобилизации**

3.1.28 Гематология и переливание крови

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва — 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении  
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

Академик РАН, профессор, доктор медицинских наук **Савченко Валерий Григорьевич**

**Официальные оппоненты:**

**Семочкин Сергей Вячеславович** – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Луговская Светлана Алексеевна** – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д\_\_\_\_\_ при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125167 г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте [www.blood.ru](http://www.blood.ru).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук

Сысоева Елена Павловна

### Актуальность исследования

Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) в совокупности с ключевыми лекарственными средствами, включаемыми в состав индукционных и посттрансплантационных схем, рассматривается как метод, позволяющий значительно улучшить общую и безрецидивную выживаемость у больных заболеваниями системы крови. Однако данная терапия обладает высокой гематологической токсичностью, что, в свою очередь, приводит к длительному миелотоксическому агранулоцитозу и возникновению тяжёлых осложнений, которые могут стать причиной смерти больного. Длительный период цитопении после цитотоксического воздействия приводит к присоединению инфекционных и геморрагических осложнений, увеличению объёма заместительной трансфузионной и сопутствующей терапии.

Одной из целей высокодозной химиотерапии с последующей ауто-ТГСК является максимально быстрое и полное восстановление кроветворения, повреждённого высокими дозами цитостатических препаратов. Однако ауто-ТГСК не позволяет полностью избежать периода глубокой нейтропении и тромбоцитопении. Сроки восстановления кроветворения в посттрансплантационный период определяются свойствами трансплантата и состоянием клеточных структур гемопоэтической ниши [Покровская О.С., 2012; Ameen R.M. и соавт., 2008]. Процесс миграции реинфузированных стволовых кроветворных клеток (СКК) в костномозговое пространство и установление связей со стромальными клетками занимает несколько дней, после чего цитокины и факторы пролиферации, синтезируемые клетками стромы костного мозга, стимулируют клеточную пролиферацию и дифференцировку кроветворных клеток.

Из факторов, влияющих на сроки восстановления гемопоэза в посттрансплантационном периоде, наиболее часто указывают на количество CD34<sup>+</sup> клеток в трансплантате [Ameen R.M. и соавт., 2008; Mazumder A. и соавт., 2008]. Однако следует принимать во внимание, что популяция клеток CD34<sup>+</sup> неоднородна и включает субпопуляции СКК, соответствующие разной степени дифференцировки и созревания. В ряде случаев трансплантация адекватного количества CD34<sup>+</sup> клеток не приводит к полноценному трехростковому восстановлению кроветворения. После восстановления гемопоэза могут отмечаться повторные отсроченные цитопении, приводящие к серьёзным инфекционным осложнениям. У ряда больных встречаются случаи, когда изначально быстрое восстановление лейкоцитов крови сопровождается их последующим падением и повторным медленным восстановлением. Примерно 10 % случаев трансплантаций сопровождается длительными тромбоцитопениями (30 дней и более) [Dercksen M.W. и соавт., 1995].

Так как зрелость СКК, наряду с их количеством, влияет на длительность восстановления гемопоэза после ауто-ТГСК, следовательно необходима чёткая характеристика субпопуляций гемопоэтических клеток-предшественниц. В связи с этим в последнее время ведётся активный поиск новых маркеров СКК, позволяющих оценить фракцию примитивных гемопоэтических клеток. Так, в популяции гемопоэтических стволовых клеток у человека был обнаружен маркер – ангиотензин-превращающий фермент (АПФ, CD143). Экспрессия АПФ была обнаружена на человеческих эмбриональных клетках и клетках постэмбриональных гемопоэтических органов. В человеческом организме (до формирования гемопоэтических стволовых клеток и сосудистой стенки аорты) на некоторых CD34<sup>-</sup>CD45<sup>-</sup> клетках эмбриона обнаружена экспрессия АПФ. Также в результате трансплантации печеночных и костномозговых клеток-предшественниц мышам линии NOD/SCID было продемонстрировано, что клетки экспрессирующие CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup>, обладают более длительным пролиферативным потенциалом в отличие от CD34<sup>+</sup> клеток, не экспрессирующих CD143 [Jokubaitis V.J. и соавт., 2008].

Проведённое проспективное исследование направлено на изучение особенностей субпопуляционного состава СКК. Сопоставление содержания трансплантируемых субпопуляций СКК в периферической крови (ПК) и в лейкоконцентрате (ЛК) с клиническими данными позволит более детально оценить роль каждой отдельной субпопуляции и прогнозировать скорость и полноту восстановления кроветворения после ауто-ТГСК.

### **Степень разработанности темы исследования**

В отечественной литературе есть единичные исследовательские работы, посвященные изучению особенностей экспрессии АПФ на лейкоэмбриональных дендритных клетках [Гальцева И.В., 2009], определению экспрессии АПФ на CD34<sup>+</sup> клетках периферической крови (ПК) и костного мозга у больных с впервые выявленным острым лейкозом (ОЛ) на разных этапах индукционной терапии [Паровичникова Е.Н., 2013]. В зарубежной литературе большое внимание уделяется роли АПФ в регуляции как нормального, так и патологического гемопоэза. Ряд исследователей показали, что содержание АПФ в крови и костном мозге у больных ОЛ, множественной миеломой (ММ), лимфомами и хроническими миелопролиферативными заболеваниями существенно отличалось от содержания АПФ у здоровых людей.

### **Цель исследования**

Изучить субпопуляции CD34<sup>+</sup> СКК с различной степенью дифференцировки в ПК и ЛК у больных гемобластозами и у доноров.

### **Задачи исследования**

1. Оценить долю и субпопуляционный состав СКК в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в первый день лейкафереза на основании экспрессии антигенов CD34, CD45, CD38, HLA-DR, CD143 у больных гемобластозами и у доноров.
2. Сопоставить профили субпопуляций СКК в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в первый день лейкафереза у больных гемобластозами.
3. Определить факторы, ассоциированные с содержанием CD34<sup>+</sup> клеток и их субпопуляций в ЛК у больных гемобластозами.
4. Проанализировать динамику восстановления лейкоцитов после ауто-ТГСК в зависимости от иммунофенотипических особенностей СКК, количества перелитых CD34<sup>+</sup> клеток, ответа на терапию, количества курсов химиотерапии до мобилизации, возраста больного и наличия инфекционных осложнений.

### **Научная новизна**

Впервые проведено исследование экспрессии CD143 методом проточной цитометрии на СКК пациентов с гемобластозами и здоровых доноров, изучены иммунофенотипические характеристики субпопуляций мобилизованных СКК и взаимосвязь особенностей фенотипа со сроками и полнотой восстановления после ауто-ТГСК.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Теоретическая значимость исследования заключается в детализации субпопуляционного состава CD34<sup>+</sup> клеток и выявлении влияния отдельных субпопуляций на сроки восстановления кроветворения после ауто-ТГСК.

Практическая значимость состоит в продемонстрированной необходимости исследования субпопуляций CD34<sup>+</sup> клеток. Оценка содержания CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток в ПК до мобилизации может служить предиктором успешной мобилизации СКК.

### **Методология и методы исследования**

Основу для методологии составили отечественные и зарубежные исследования по изучению антигенов кластеров дифференцировки, экспрессирующихся на CD34<sup>+</sup> клетках. Применяли иммунофенотипический метод исследования.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клетки обнаружены в ПК как до, так и после мобилизации СКК. После стимуляции гемопоэза, наряду с повышением содержания CD34<sup>+</sup> клеток, увеличивается

доля CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток. Выявлена прямая связь между содержанием CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток в ПК до мобилизации и долей CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК.

2. Наличие длительно репопулирующих СКК (CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>+/-</sup>) в ПК до мобилизации ассоциировано с большим содержанием CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК.

### **Степень достоверности и апробации результатов**

Достоверность полученных результатов основана на изучении достаточного объёма научной литературы и применённой методологии исследования, статистического анализа данных. Результаты работы представлены на отечественных и зарубежных конгрессах и конференциях в формате тезисных сообщений (21-й конгресс Европейского общества гематологов, Копенгаген, 2016 г., 24-й конгресс Европейского общества гематологов, Амстердам, 2019 г., III-й конгресс гематологов России, Москва, 2020 г.).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 7 работ, 3 из них в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 4 тезисных сообщения, в том числе 3 – в англоязычных сборниках конференций.

### **Объем и структура диссертации**

Работа изложена на 113 страницах машинописного текста, иллюстрирована 22 рисунками и 11 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, методов исследования и клинической характеристики больных, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций. Библиографический указатель содержит 175 литературных источников: 22 отечественных и 153 зарубежных.

### **Пациенты и методы исследования**

#### **Характеристика больных**

Исследование субпопуляций СКК в ПК и ЛК проведено у 80 пациентов с ММ, лимфомами и Т-ОЛЛ. Мобилизацию и сбор СКК всем пациентам проводили в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в период с ноября 2014 по апрель 2017 года. В исследование было включено 40 мужчин и 40 женщин с медианой возраста 51 год (19 - 67). Среди всей группы преобладали пациенты с ММ – 53 пациента, также были проанализированы данные 20 пациентов с лимфомой Ходжкина и неходжкинскими лимфомами, 7 пациентов с острым Т-лимфобластным лейкозом (Т-ОЛЛ). В контрольную группу было включено 24 здоровых донора: 10 образцов ПК добровольцев с медианой возраста 29 лет (22-34) и 14 образцов ЛК

доноров для неродственной трансплантации аллогенного костного мозга. Клинико-лабораторная характеристика пациентов представлена в Таблице 1.

**Таблица 1** – Клинико-лабораторная характеристика пациентов перед мобилизацией СКК

| Показатель  | ММ<br><i>n</i> = 53 | Лимфомы<br><i>n</i> = 20 | Т-ОЛЛ<br><i>n</i> = 7 |
|---|---------------------|--------------------------|-----------------------|
| Возраст, Ме (min, max)                                      | 54<br>(35 – 67)     | 44,5<br>(22 – 64)        | 33<br>(19 – 62)       |
| Пол, мужчины/женщины  | 1:1                 | 1:1,2                    | 1,3:1                 |
| Количество проведенных курсов до мобилизации, Ме (min, max) | 7<br>(3 – 16)       | 6<br>(1 – 9)             | 5<br>(4 – 5)          |
| Почечная недостаточность, <i>n</i> (%)                      | 9 (17)              | 0                        | 0                     |
| Инфекционные осложнения на этапе мобилизации, <i>n</i> (%)  | 21 (40)             | 3 (15)                   | 0                     |

Среднее количество курсов ХТ до момента сбора СКК у всех пациентов составило 7 (1 – 16). Индукционная терапия до мобилизации СКК бортезомиб-содержащими схемами проводилась 40 пациентам с ММ, леналидомид-содержащие схемы использовались у 13 пациентов. Пациентам с лимфомами до мобилизации СКК применяли курсы по различным схемам: BEACOPP-14, NHL-BFM-90, R-DA-EPOCH, R-EPOCH, R-HMA, TL-REZ, ESGAP, R-CHOP, RB, R-DHAP, СНОЕР. Всем 7 пациентам с Т-ОЛЛ перед мобилизацией проводили лечение по протоколу ОЛЛ-2009.

Инфекционные осложнения на этапе мобилизации СКК, потребовавшие назначения антимикробной терапии, наблюдались у 24 пациентов. Среди осложнений преобладали мукозит и некротическая энтеропатия. У 3 пациентов с ММ была диагностирована пневмония.

Перед мобилизацией и сбором СКК осуществлялось подробное обследование для определения ответа на противоопухолевую терапию. Распределение пациентов с разными нозологическими формами в зависимости от ответа на противоопухолевую терапию представлено в Таблице 2.

**Таблица 2** – Распределение пациентов с разными нозологическими формами в зависимости от ответа на противоопухолевую терапию

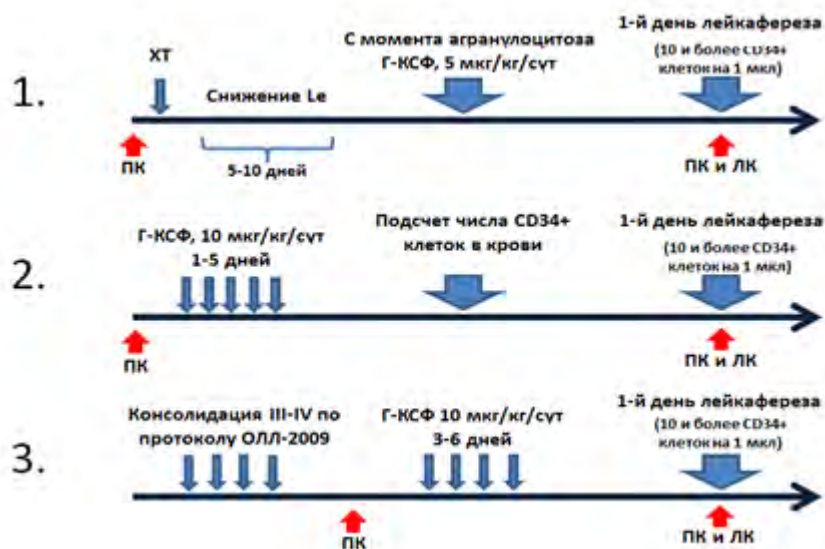
| Диагноз | Число больных n (%) | Полная ремиссия (ПР) | Очень хороший частичный ответ (ОХЧО) | Частичный ответ (ЧО) | Прогрессия, рецидив |
|---------|---------------------|----------------------|--------------------------------------|----------------------|---------------------|
| ММ      | 53 (66)             | 12                   | 25                                   | 15                   | 1                   |
| Лимфомы | 20 (25)             | 8                    | -                                    | 8                    | 4                   |
| Т-ОЛЛ   | 7 (9)               | 7                    | -                                    | -                    | -                   |

Перед сбором СКК пациентам проводили курс стимуляции кроветворения. В большинстве случаев использовали сочетание ХТ с последующим введением ростовых факторов кроветворения в дозировке 5–10 мкг на 1 кг массы тела больного. Во всех случаях для мобилизации СКК был использован гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ).

Химиотерапевтические режимы, предшествующие введению ростовых факторов, различались в зависимости от диагноза. При мобилизации СКК у 40 пациентов с ММ использовали циклофосфамид в дозе 4 г/м<sup>2</sup> с последующим введением Г-КСФ, у 9 пациентов СКК были мобилизованы с помощью Г-КСФ в монорежиме (в эту группу вошли пациенты с почечной недостаточностью), 4 пациентам проводили курсы ХТ (VD-PACE, DHAP) с последующим введением Г-КСФ. Всем пациентам с Т-ОЛЛ мобилизацию СКК проводили с использованием Г-КСФ после курса консолидации III или IV по протоколу ОЛЛ-2009, при условии, что количество лейкоцитов в гемограмме было 1,5 x 10<sup>9</sup>/л и выше. При лимфоме Ходжкина использовали схемы R-DHAP (ритуксимаб, дексаметазон, высокодозный цитарабин, цисплатин) и циклофосфамид. При неходжкинских лимфомах у большинства пациентов применяли протоколы ХТ, включающие сочетание нескольких химиопрепаратов (DHAP, R-DHAP, R-DA-EPOCH, R-NHL-BFM-90, TL-REZ, R-HMA).

Введение Г-КСФ начинали при снижении количества лейкоцитов в крови менее 1,0 x 10<sup>9</sup>/л и (как правило, на 8-9 день после курса ХТ) и продолжали в течение 3–12 дней до завершения сбора СКК. Показанием для сбора являлось быстрое повышение лейкоцитов в ПК более 1,0 x 10<sup>9</sup>/л. Перед процедурой лейкафереза определяли количество клеток CD34<sup>+</sup>, циркулирующих в ПК. При содержании 10-20 клеток CD34<sup>+</sup> и более в 1 мкл выполняли сбор СКК. Проводили от 1 до 5 сеансов лейкафереза в зависимости от эффективности стимуляции кроветворения и мобилизации СКК. Варианты мобилизации и сбора СКК представлены на Рисунке 1.





**Рисунок 1** – Варианты мобилизации и сбора СКК

### Методы

Для определения исследуемых популяций клеток в ПК и ЛК применяли метод проточной цитометрии. Исследование выполняли в лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. отд., к.м.н. Гальцева И.В.) на проточном цитометре FACS Canto II (Beckton Dickinson, США). Материалом для иммунофенотипического исследования служили образцы ПК пациентов до мобилизации и в первый день лейкофереза, перед процедурой сбора стволовых клеток. Образцы ЛК исследовались в первый день сбора СКК. Иммунофенотип исследуемых популяций клеток представлен в Таблице 3.

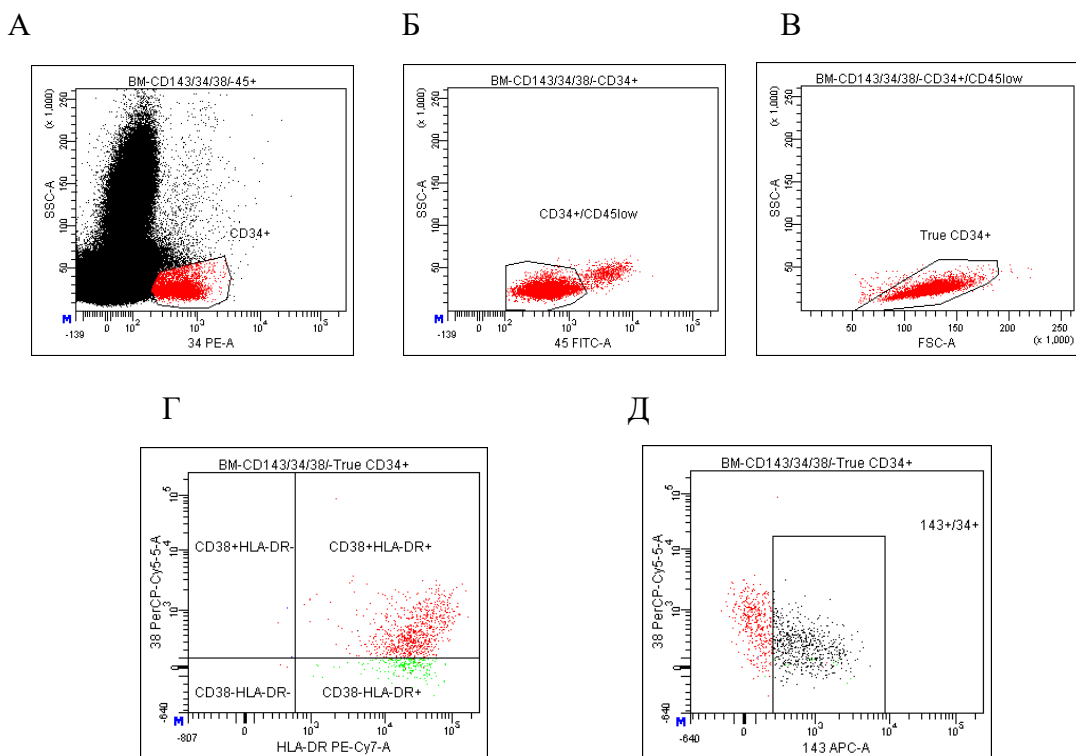
**Таблица 3** – Иммунофенотип исследуемых популяций клеток

| Популяция клеток                          | Иммунофенотип   |
|---|---|
| Длительно репопулирующие костный мозг СКК | CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>-</sup> HLA-DR <sup>-</sup>   |
|   | CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>-</sup> HLA-DR <sup>+</sup>   |
| Мультипотентные клетки                    | CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>-</sup> CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> |
| СКК, экспрессирующие АПФ                  | CD34 <sup>+</sup> CD143 <sup>+</sup>  |

Оценку количества СКК в ПК и в ЛК осуществляли на основании 2-платформенного алгоритма согласно протоколу ISHAGE (International Society of Hematotherapy and Graft Engineering) методом проточной цитофлуориметрии (Siena S., 1991) с использованием прямых

конъюгатов моноклональных антител к антигену стволовых клеток CD34 и общелейкоцитарному антигену CD45. В связи с низким содержанием СКК в ПК до мобилизации из каждого образца просчитывали до 1 миллиона событий. Субпопуляционный состав СКК оценивали на основании иммунологического фенотипа CD34<sup>+</sup>CD45<sup>low</sup> клеток методом проточной цитометрии с использованием тройной флуоресцентной метки. Пропорцию ранних стволовых клеток-предшественниц оценивали по экспрессии антигенов HLA-DR и CD38 и по экспрессии антигена CD143 (Рисунок 2).

### Алгоритм анализа экспрессии CD34<sup>+</sup> и субпопуляций СКК



**Рисунок 2** – Алгоритм выделения гейта CD34<sup>+</sup> клеток и субпопуляций СКК: А. Выделение клеток, экспрессирующих CD34, на диаграмме CD34 PE-A против SSC-A, гейт “CD34<sup>+</sup>”; Б. Обратное гейтирование событий из гейта “CD34<sup>+</sup>” на диаграмме CD45 FITC-A против SSC-A, гейт “CD34<sup>+</sup>CD45<sup>low</sup>”; В. Обратное гейтирование событий из гейта “CD34<sup>+</sup>CD45<sup>low</sup>” на диаграмме FSC-A против SSC-A, гейт “True CD34<sup>+</sup>”; Г. Определение экспрессии HLA-DR (ось абсцисс) и CD38 (ось ординат) на стволовых CD34<sup>+</sup>CD45<sup>low</sup> клетках. Д. Определение экспрессии АПФ (CD143) в пределах гейта стволовых CD34<sup>+</sup>CD45<sup>low</sup> клеток

### Статистическая обработка данных

Данные исследования вносились в формате таблиц EXCEL. Для проведения статистического анализа все данные исследования были преобразованы в рабочие файлы

статистического пакета SAS 9.4, с помощью процедур которого выполнялся весь статистический анализ.

Для анализа результатов использовали классические методы описательной статистики, частотный и регрессионный анализ. Многофакторный ковариационный анализ использовался для отбора наиболее значимых признаков, связанных с целевым показателем – длительностью цитопении (SAS процедура GLMSELECT). Изучение динамики исследуемых лабораторных измерений проводили с помощью методов анализа повторных наблюдений в общей линейной модели (SAS процедура MIXED).

Динамические ряды данных представлены в виде спагетти-графиков для отображения индивидуальных треков с наложением в контрольных точках бокс-плотов, на которых обозначены минимальное и максимальное значения, медиана, среднее значение, нижний квартиль (0,75 квантиль), верхний квартиль (0,75 квантиль), «выброс».

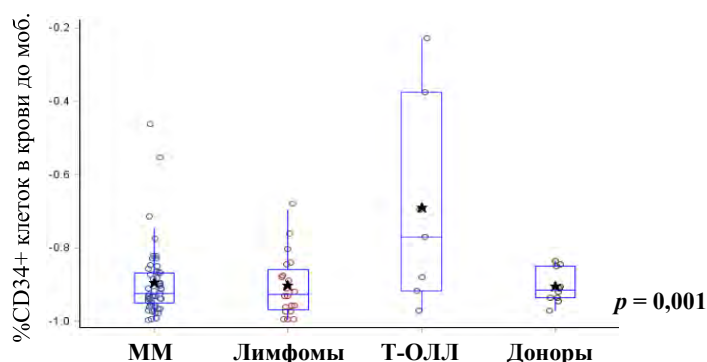
Статистический анализ был выполнен в информационно-аналитическом отделе (зав. отд. к.т.н. Куликов С.М.).

### Результаты собственных исследований

#### Характеристика СКК и субпопуляционного состава в ПК у пациентов и доноров до мобилизации

Относительное количество  $CD34^+$  клеток в образцах ПК до мобилизации у пациентов было незначительным и варьировало от 0,001% до 0,49% и в среднем составило 0,04% при медиане 0,021%. У доноров число этих клеток в образцах ПК варьировало от 0,007% до 0,046% и в среднем составило 0,025% при медиане 0,022%.

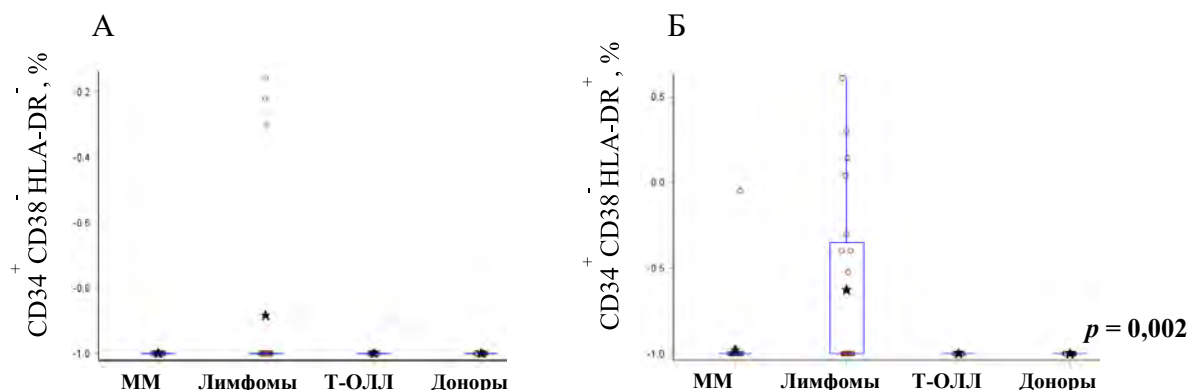
Было обнаружено, что содержание клеток  $CD34^+$  у пациентов с Т-ОЛЛ статистически значимо выше, чем у пациентов с ММ, лимфомами и доноров ( $p = 0,001$ ) (Рисунок 3).



**Рисунок 3** – Сравнение доли  $CD34^+$  клеток в ПК до мобилизации у пациентов с различными диагнозами и доноров

При анализе субпопуляционного состава СКК в ПК перед мобилизацией ранние клетки-предшественницы  $CD34^+$ , не экспрессирующие  $CD38$  и  $HLA-DR$ , практически не выявлялись у

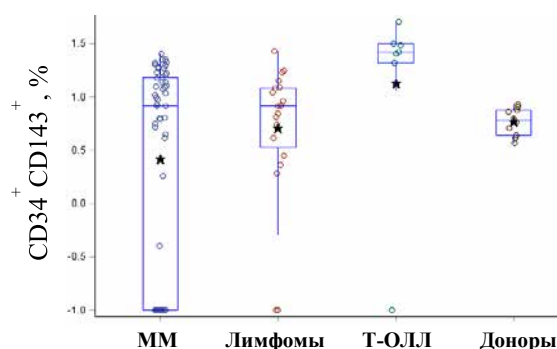
пациентов и доноров. У 3 пациентов с лимфомами было обнаружено от 0,4% до 0,6% клеток  $CD34^+CD38^-HLA-DR^-$  (Рисунок 4 А). Были выявлены различия в количестве клеток  $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$ . Так, у пациентов с лимфомами количество этих клеток было статистически значимо выше, чем у остальной группы пациентов и доноров ( $p = 0,002$ ) (Рисунок 4 Б).



**Рисунок 4** – Субпопуляции длительно репопулирующих СКК в ПК до мобилизации у пациентов и доноров: А. Содержание  $CD34^+CD38^-HLA-DR^-$  клеток; Б. Содержание  $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$  клеток

Доля  $CD34^+CD38^+HLA-DR^+$  клеток в ПК до мобилизации у пациентов и доноров варьировала от 66,2% до 100% и в среднем составила 89,4%. Статистически значимых отличий в содержании этих клеток у пациентов с различными диагнозами и у доноров выявлено не было. Не выявлено статистически значимых отличий и в популяции клеток  $CD34^+CD38^+HLA-DR^-$ , которая в среднем составила  $8,85 \pm 1,14\%$  и  $7,04 \pm 1,23$  у пациентов и доноров, соответственно.

При анализе экспрессии CD143 на  $CD34^+$  клетках в ПК до мобилизации у пациентов с Т-ОЛЛ доля  $CD34^+CD143^+$  клеток была существенно больше (более чем в 3 раза) по сравнению с другими группами пациентов и доноров, что вероятно связано с особенностями терапии (непрерывное лечение по протоколу ОЛЛ-2009) (Рисунок 5).



**Рисунок 5** – Субпопуляция  $CD34^+CD143^+$  клеток в ПК до мобилизации у пациентов и доноров

Относительное количество субпопуляций CD34<sup>+</sup> клеток у пациентов с ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ, доноров в ПК до мобилизации представлено в Таблице 4.

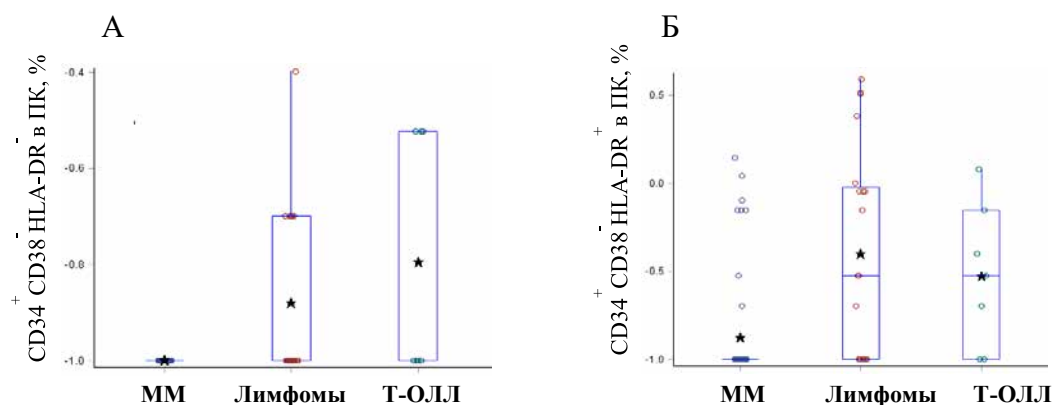
**Таблица 4** – Относительное количество субпопуляций CD34<sup>+</sup> клеток у пациентов с ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ, доноров в ПК до мобилизации (M±m)

| Диагноз           | Субпопуляции стволовых кроветворных клеток (CD34 <sup>+</sup> ), % |                                       |                                       |                                       |                    |
|-------------------|--|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
|                   | CD38 <sup>-</sup> HLA-DR <sup>-</sup>                              | CD38 <sup>-</sup> HLA-DR <sup>+</sup> | CD38 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>-</sup> | CD38 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> | CD143 <sup>+</sup> |
| ММ<br>n = 53      | 0  | 0,04±0,03                             | 8,82±0,97                             | 89,68±0,97                            | 10,25±1,24         |
| Лимфомы<br>n = 20 | 0,08±0,04  | 0,47±0,22                             | 8,44±1,14                             | 90,1±1,7                              | 8,65±1,49          |
| Т-ОЛЛ<br>n = 7    | 0  | 0                                     | 7,75±1,43                             | 91,8±1,4                              | 13,48±3,03         |
| Доноры<br>n = 10  | 0  | 0                                     | 7,04±1,23                             | 92,96±1,23                            | 5,94±0,54          |

#### **Характеристика СКК и субпопуляционного состава в ПК и ЛК у пациентов и доноров в первый день лейкафереза.**

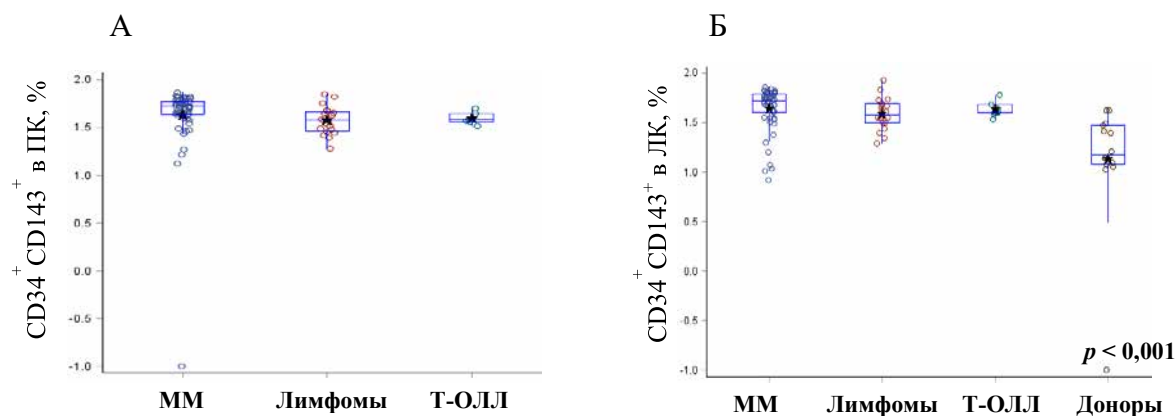
В 1й день лейкафереза содержание клеток CD34<sup>+</sup> в ПК и ЛК у пациентов увеличилось и составило в среднем 0,69±0,1 и 1,42±1,18%, соответственно. Статистически значимых различий в доле клеток CD34<sup>+</sup> в ПК у пациентов с различными диагнозами не было выявлено. Однако в ЛК у доноров количество CD34<sup>+</sup> клеток было статистически значимо меньше, чем у пациентов ( $p = 0,002$ ).

При анализе субпопуляционного состава СКК в ПК в 1й день лейкафереза у пациентов ММ доля длительно репопулирующих СКК с иммунофенотипом CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup> и CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>+</sup> была статистически значимо меньше, чем у пациентов с лимфомами и Т-ОЛЛ ( $p=0,02$ ) (Рисунок 6:А, Б). Статистически значимых различий в субпопуляциях мультипотентных клеток CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> и CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> у пациентов с ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ не было выявлено.



**Рисунок 6** – Субпопуляции CD34<sup>+</sup> клеток в ПК в 1й день лейкофереза у пациентов с ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ: А. Содержание CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток; Б. Содержание CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>+</sup> клеток

Наряду с повышением общего содержания CD34<sup>+</sup> клеток после стимуляции кроветворения увеличилась доля CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток. В ПК в 1й день лейкофереза доля этих клеток в среднем составила 46,1±15,05% и статистически значимых различий между диагнозами выявлено не было (Рисунок 7А). В ЛК в 1й день лейкофереза у доноров содержание CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток было статистически значимо ниже, чем у пациентов с ММ, лимфомами и Т-ОЛЛ ( $p < 0,001$ ) (Рисунок 7Б).



**Рисунок 7** – Субпопуляция CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток в ПК в 1й день лейкофереза: А. У пациентов с ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ; Б. У пациентов с ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ и доноров

В ЛК в 1й день лейкофереза у пациентов с ММ и у доноров содержание длительно репопулирующих клеток CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup> было статистически значимо меньше, чем у пациентов с Т-ОЛЛ и лимфомами ( $p = 0,02$ ). Доля длительно репопулирующих клеток CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>+</sup> была значимо меньше у пациентов с ММ, чем у пациентов с лимфомами ( $p = 0,002$ ).

При оценке субпопуляций мультипотентных клеток в ЛК в 1й день лейкофереза содержание  $CD34^+CD38^+HLA-DR^-$  клеток у доноров было значимо больше, чем у пациентов ( $p = 0,021$ ) и, напротив, доля  $CD34^+CD38^+HLA-DR^+$  клеток у доноров была значимо меньше, чем у пациентов ( $p = 0,02$ ).

В Таблице 5 представлен сравнительный анализ субпопуляционного состава СКК в ПК и в ЛК в 1й день лейкофереза у пациентов и доноров.

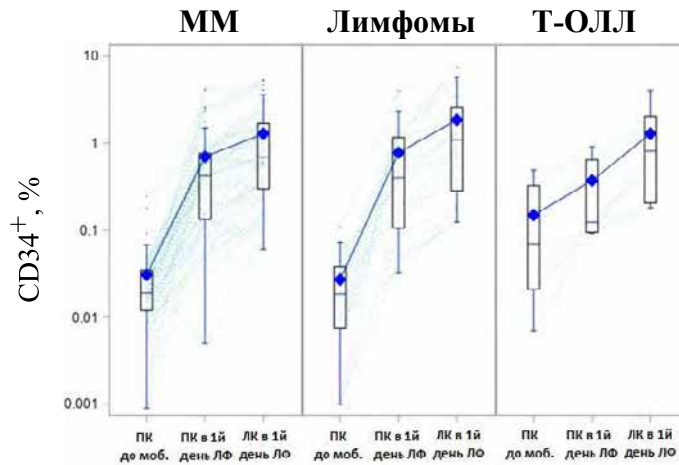
**Таблица 5** – Относительное количество различных субпопуляций клеток  $CD34^+$  у пациентов ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ, доноров в ПК и в ЛК в 1й день лейкофереза ( $M \pm m$ )

| Диагноз             |                      | Субпопуляции СКК ( $CD34^+$ ), % |                         |                         |                         |            |
|---------------------|----------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
|                     |                      | $CD38^-$<br>HLA-DR $^-$          | $CD38^-$<br>HLA-DR $^+$ | $CD38^+$<br>HLA-DR $^-$ | $CD38^+$<br>HLA-DR $^+$ | CD143 $^+$ |
| ММ<br>$n = 53$      | ПК в 1<br>день<br>ЛФ | 0,0                              | 0,2±0,7                 | 2,98±0,35               | 96,7±0,35               | 48,6±1,8   |
|                     | ЛК                   | 0,0                              | 0,19±0,5                | 3,09±0,5                | 96,28±0,65              | 47,3±1,92  |
| Лимфомы<br>$n = 20$ | ПК в 1<br>день<br>ЛФ | 0,05±0,02                        | 0,84±0,28               | 3,81±0,94               | 95,13±0,97              | 39,6±3,04  |
|                     | ЛК                   | 0,07±0,03                        | 0,73±0,2                | 3,26±0,67               | 95,94±0,78              | 41,5±3,5   |
| Т-ОЛЛ<br>$n = 7$    | ПК в 1<br>день<br>ЛФ | 0,09±0,04                        | 0,33±0,15               | 4,13±0,65               | 95,67±0,68              | 39,8±2,28  |
|                     | ЛК                   | 0,36±0,22                        | 0,33±0,13               | 5,29±1,41               | 94,03±1,72              | 43,7±3,29  |
| Доноры<br>$n = 14$  | ЛК                   | 0,11±0,07                        | 0,41±0,23               | 10,92±1,9               | 88,55±1,94              | 20,4±3,22  |

\*ЛФ - лейкоферез

#### **Сравнение доли $CD34^+$ клеток в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в первый день лейкофереза**

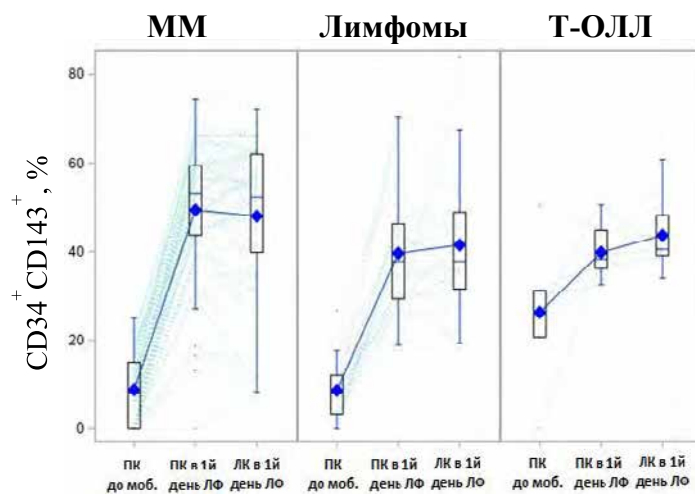
В 1й день лейкофереза в ПК и в ЛК у пациентов увеличилась доля  $CD34^+$  клеток. У всех пациентов количество этих клеток в ПК и в ЛК в 1й день лейкофереза было статистически значимо больше, чем в ПК до мобилизации (Рисунок 8).



**Рисунок 8** – Содержание  $CD34^+$  клеток в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза

#### Субпопуляционный состав СКК в ПК до мобилизации и в ПК, в ЛК в 1й день лейкафереза

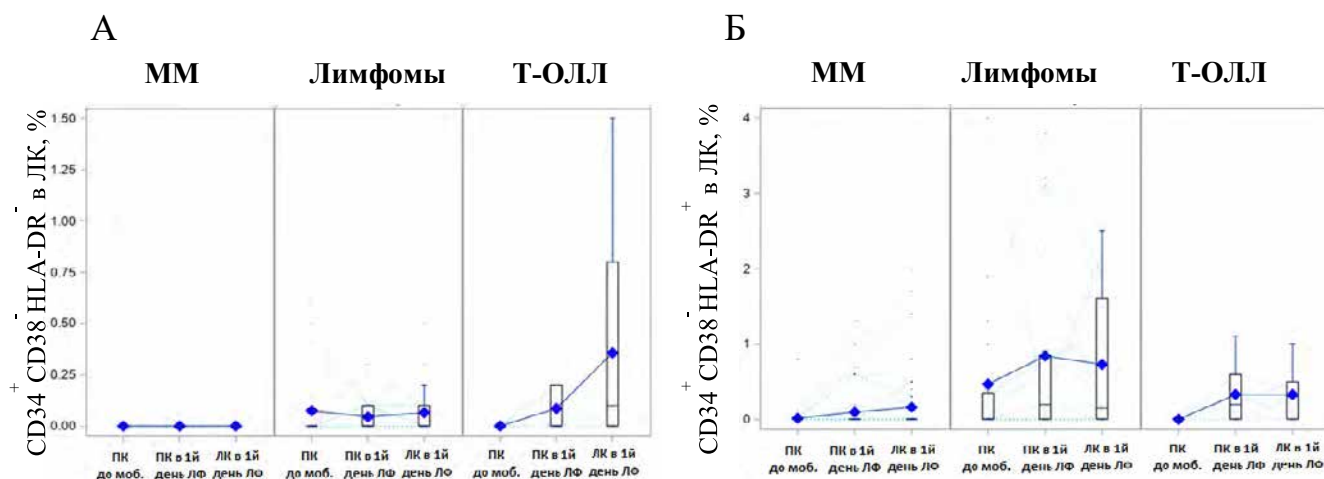
Было выявлено, что наряду с повышением общего содержания  $CD34^+$  клеток, статистически значимо повысилась доля  $CD34^+CD143^+$  клеток в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза (Рисунок 9). До мобилизации в ПК среднее содержание  $CD34^+CD143^+$  клеток у всех пациентов составило  $10,28 \pm 1,08\%$ , в ЛК доля этих клеток составила  $46,06 \pm 1,79\%$ .



**Рисунок 9** – Содержание  $CD34^+CD143^+$  клеток в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза

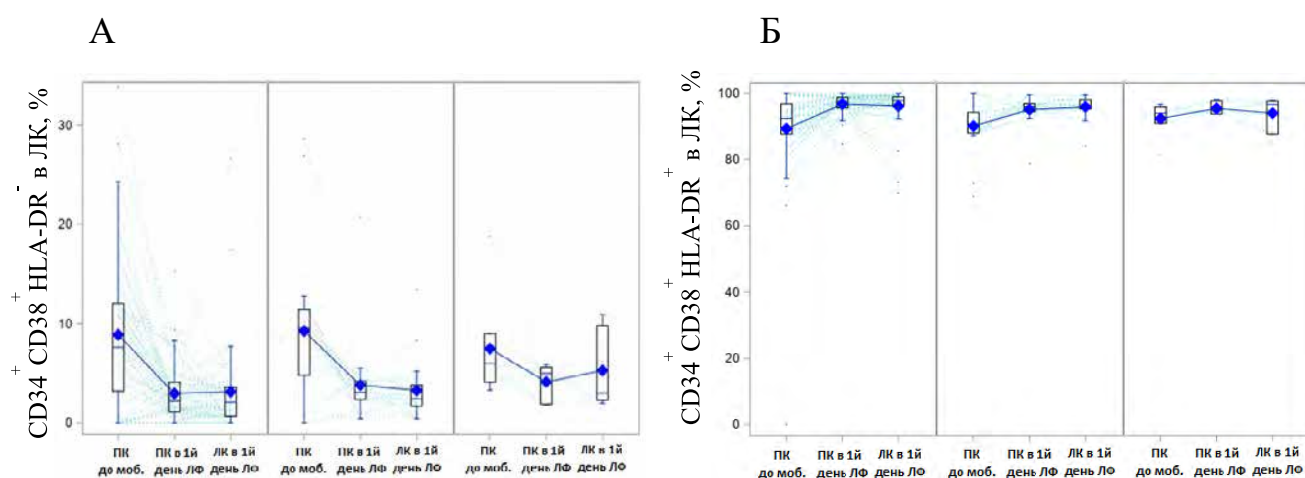
При сравнении субпопуляционного состава  $CD34^+$  клеток было выявлено, что у пациентов с Т-ОЛЛ в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза повысилась доля длительно репопулирующих СКК  $CD34^+CD38^-HLA-DR^-$  (Рисунок 10А). Доля длительно репопулирующих СКК с иммунофенотипом  $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$  в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза увеличилась у всех пациентов (Рисунок 10Б).





**Рисунок 10** – Сравнение доли длительно репопулирующих СКК: А. CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза; Б. CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>+</sup> клеток в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза

При сравнении субпопуляций мультипотентных клеток было выявлено, что доля CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток в ПК до мобилизации была статистически значимо больше, чем в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза (Рисунок 11 А). Напротив, доля CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> клеток в ПК до мобилизации была меньше, чем в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза (Рисунок 11 Б).



**Рисунок 11** – Сравнение доли мультипотентных клеток: А. CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза; Б. CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> клеток в ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в 1й день лейкафереза

### Факторы, ассоциированные с содержанием CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК у больных гемобластозами

Для определения факторов, ассоциированных с содержанием CD34<sup>+</sup> клеток и субпопуляций СКК в ЛК, на первом этапе был проведён пошаговый отбор признаков многофакторной ковариационной модели. На втором этапе для демонстрации полученных результатов проведён парный анализ. В стартовый набор признаков включили количество

перелитых CD34<sup>+</sup> клеток, ответ на терапию, количество курсов до мобилизации, возраст пациента и наличие инфекционных осложнений, а также иммунофенотипические особенности субпопуляций СКК (содержание CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>, CD34<sup>+</sup>HLA<sup>-</sup> в ПК до мобилизации). Так как распределение числового признака субпопуляций CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> и CD34<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> очень сильно отклонялось от нормального, они находились на грани чувствительности метода, в связи с чем для их анализа использовался бинарный признак («0» и больше «0»).

Статистически значимыми факторами, ассоциированными с высоким содержанием CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК, при многофакторном анализе оказались доля CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> и CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> в ПК до мобилизации, а также ответ на терапию (Таблица 6).

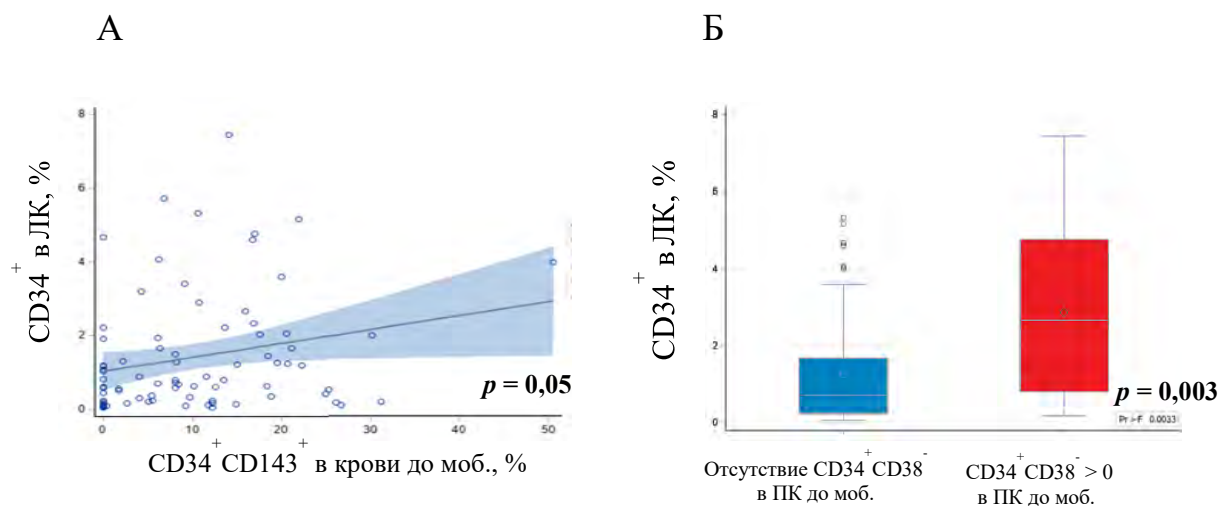
**Таблица 6** – Факторы, ассоциированные с содержанием CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК (многофакторный анализ)

| Целевой признак     | Отобранные значимые факторы                                 | R <sup>2</sup> | P <sub>F</sub> |
|---------------------|---|----------------|----------------|
| % CD34 <sup>+</sup> | CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>-</sup> > 0 в ПК до мобилизации | 0,11           | 0,034          |
|                     | % CD34 <sup>+</sup> CD143 <sup>+</sup> в ПК до мобилизации  | 0,16           | 0,0033         |
|                     | Ответ на терапию  | 0,23           | 0,028          |

Содержание CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК в многофакторной модели наиболее сильно зависело от доли CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток в ПК до мобилизации ( $p = 0,003$ ). На регрессивном графике продемонстрировано, что эта связь есть, но она была менее выражена ( $p = 0,05$ ) (Рисунок 12 А). Присутствие ранних клеток-предшественниц с иммунофенотипом CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> в ПК до мобилизации также ассоциировалось с большим содержанием CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК. В парной модели эта зависимость была более выражена ( $p = 0,003$ ). При концентрации CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> клеток больше «0» в ПК до мобилизации медиана CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК составила 2,6%, а при отсутствии CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> клеток в ПК до мобилизации медиана CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК составила 0,71% (Рисунок 12 Б).

В многофакторной модели также была выявлена связь между содержанием CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК и ответом на терапию. У пациентов, которым осуществляли сбор СКК в прогрессии или

рецидиве заболевания, доля  $CD34^+$  клеток в ЛК была статистически значимо больше, чем у пациентов в ПР, ОХЧО или ЧО. При парном анализе эта связь также ярко выражена ( $p = 0,015$ ), однако группа пациентов в прогрессии или рецидиве заболевания составила всего 5 человек из 80, для подтверждения этих результатов стоит провести исследование на большей группе пациентов.



**Рисунок 12** – Содержание  $CD34^+$  клеток в ЛК (попарный однофакторный анализ): А. В зависимости от доли  $CD34^+CD143^+$  клеток в ПК до мобилизации; Б. В зависимости от доли  $CD34^+CD38^-$  клеток в ПК до мобилизации

#### Факторы, ассоциированные с содержанием $CD34^+CD143^+$ клеток в ЛК

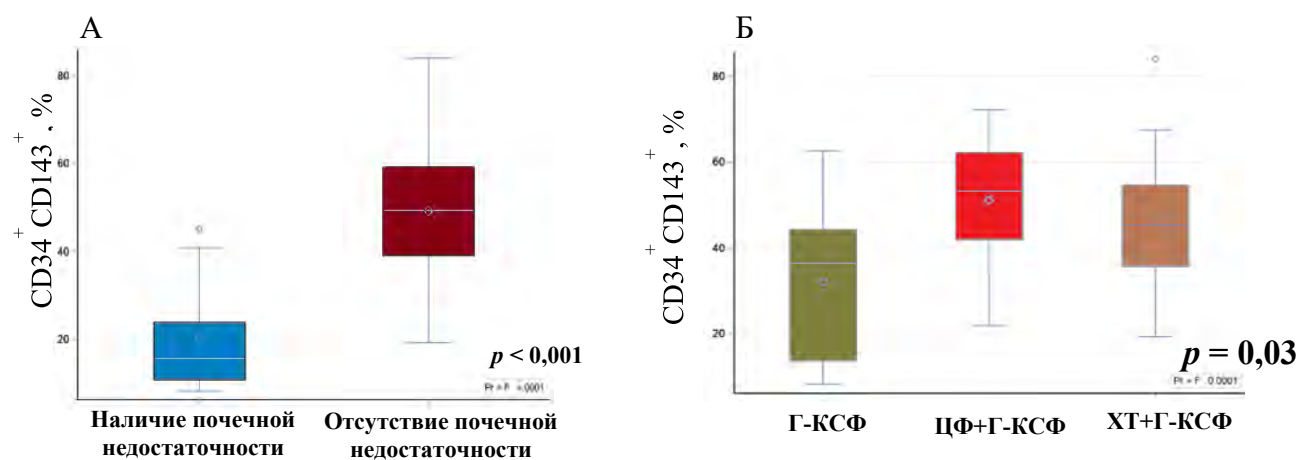
В результате пошагового отбора признаков многофакторной ковариационной модели были выявлены следующие факторы, ассоциированные с содержанием доли субпопуляции  $CD34^+CD143^+$  в ЛК: почечная недостаточность, диагноз, режим мобилизации и количество курсов ХТ (Таблица 10).

**Таблица 10** – Факторы, ассоциированные с содержанием  $CD34^+CD143^+$  клеток (многофакторный анализ)

| Целевой признак   | Отобранные значимые факторы | $R^2$ | $P_F$   |
|-------------------|-----------------------------|-------|---------|
| % $CD34^+CD143^+$ | Почечная недостаточность    | 0,32  | < 0,001 |
|                   | Диагноз                     | 0,43  | 0,0011  |
|                   | Режим мобилизации           | 0,48  | 0,027   |
|                   | Количество курсов ХТ        | 0,54  | 0,021   |

Для визуализации отобранных признаков был проведён попарный однофакторный анализ. Наиболее ярко выражена зависимость между содержанием  $CD34^+CD143^+$  клеток в ЛК и почечной недостаточностью. У пациентов с почечной недостаточностью медиана доли этих клеток составила 15,8%, а без почечной недостаточности 49,4% ( $p < 0,001$ ) (Рисунок 13А).

Выявлена зависимость между долей  $CD34^+CD143^+$  клеток в ЛК и режимом мобилизации. При использовании Г-КСФ в монорежиме содержание  $CD34^+CD143^+$  клеток в ЛК было значимо меньше, чем при режимах с использованием ХТ и Г-КСФ ( $p = 0,03$ ). Однако у 9 из 16 пациентов, которым использовался Г-КСФ в монорежиме, была почечная недостаточность, что также могло повлиять на содержание  $CD34^+CD143^+$  клеток в ЛК (Рисунок 13 Б).



**Рисунок 13** – Содержание  $CD34^+CD143^+$  клеток в ЛК (попарный однофакторный анализ): А. В зависимости от почечной недостаточности; Б. В зависимости от режима мобилизации

При пошаговом отборе признаков многофакторной ковариационной модели диагноз и количество курсов ХТ также были выделены как факторы, ассоциированные с содержанием субпопуляции  $CD34^+CD143^+$  в ЛК. Однако при парном анализе эти факторы оказались статистически не значимы.

### Факторы, ассоциированные с содержанием $CD34^+CD38^-$ клеток в ЛК

В Таблице 11 представлены факторы, ассоциированные с долей  $CD34^+CD38^-$  клеток в ЛК при многофакторном ковариационном анализе.

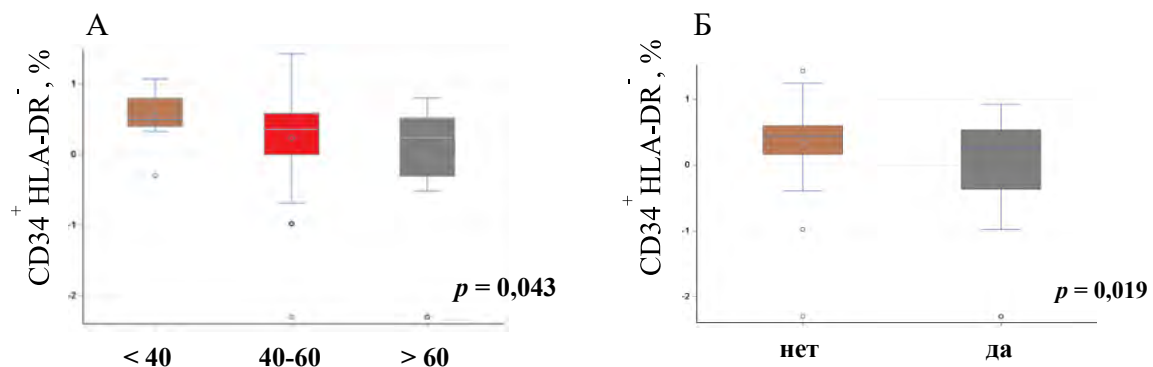
**Таблица 11** – Факторы, ассоциированные с содержанием CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> клеток в ЛК (многочисленный анализ)

| Целевой признак                     | Отобранные значимые факторы                                   | R <sup>2</sup> | P <sub>F</sub> |
|-------------------------------------|---|----------------|----------------|
| CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>-</sup> | Диагноз   | 0,35           | 0,008          |
|                                     | % CD34 <sup>+</sup> CD143 <sup>+</sup> в ПК до мобилизации    | 0,08           | 0,01           |
|                                     | CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>-</sup> > 0 в ПК до мобилизации   | 0,26           | 0,001          |
|                                     | CD34 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>-</sup> > 0 в ПК до мобилизации | 0,14           | 0,02           |

При анализе попарной связи и отобранных выше признаков ни в одном из этих факторов статистически значимых отличий выявлено не было.

#### **Факторы, ассоциированные с содержанием CD34<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток в ЛК**

При многочисленном ковариационном анализе содержание CD34<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток в ЛК зависело от возраста и инфекционных осложнений. При анализе попарной связи оба фактора оказались статистически значимы. У пациентов старше 60 лет доля CD34<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток в ЛК была меньше, чем у пациентов младше 60 лет ( $p = 0,043$ ) (Рисунок 14 А). При наличии инфекционных осложнений на этапе мобилизации СКК доля CD34<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток в ЛК была меньше, чем у пациентов без инфекционных осложнений ( $p = 0,019$ ) (Рисунок 14 Б).



**Рисунок 14** – Содержание CD34<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> клеток в ЛК: А. В зависимости от возраста; Б. В зависимости от инфекционных осложнений на этапе мобилизации (попарный анализ)

### Длительность нейтропении после ауто-ТГСК в зависимости от клинических факторов и иммунофенотипических особенностей СКК

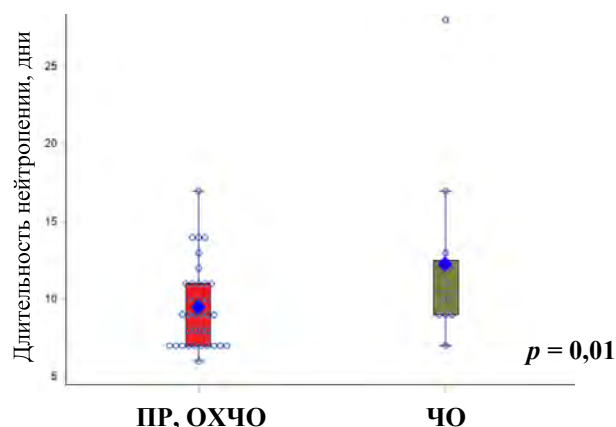
Восстановление лейкоцитов в ранний период после ауто-ТГСК было оценено у 68 пациентов с гемобластозами (ММ – 48 пациентов, лимфомы – 14 и Т-ОЛЛ – 6 пациентов). Длительность нейтропении в среднем составила 14 дней. У пациентов с лимфомами и Т-ОЛЛ медиана длительности нейтропении была одинаковой (12 дней) (Таблица 13).

**Таблица 13** – Длительность нейтропении у пациентов после ауто-ТГСК

| Длительность нейтропении             | ММ<br>n = 48 | Лимфомы<br>n = 14 | Т-ОЛЛ<br>n = 6 |
|--------------------------------------|--------------|-------------------|----------------|
| Le > 1 x 10 <sup>9</sup> /л, Me, дни | 14 (6-28)    | 12 (6-22)         | 12 (6-19)      |

Схемы высокодозной консолидации у пациентов с ММ включали алкеран (48 пациентов), у пациентов с лимфомами SEAM (11 пациентов), R-SEAM (2 пациента) Dexa-VEAM (1 пациент) и у 6 пациентов с Т-ОЛЛ использовали схему SEAM.

При анализе динамики восстановления лейкоцитов после ауто-ТГСК у пациентов с ММ был выявлен один фактор, влияющий на длительность нейтропении – ответ на терапию. У пациентов с ПР или ОХЧО длительность нейтропении была статистически значимо короче, чем у пациентов с ЧО ( $p = 0,01$ ) (Рисунок 15).

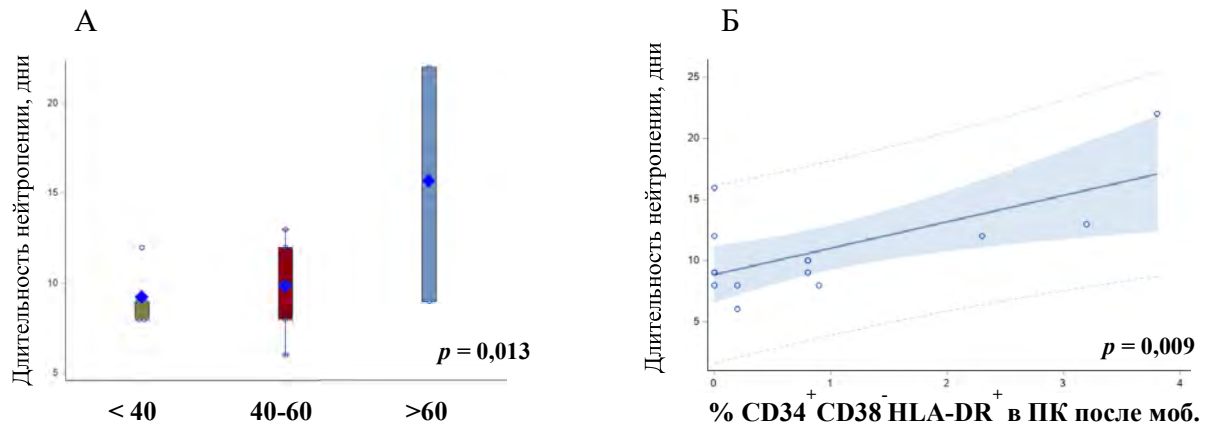


**Рисунок 15** – Длительность нейтропении после ауто-ТГСК у пациентов с ММ в зависимости от ответа на терапию

У пациентов с лимфомами выявлены следующие факторы, влияющие на длительность нейтропении после ауто-ТГСК: возраст и доля CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> в ПК в 1й день

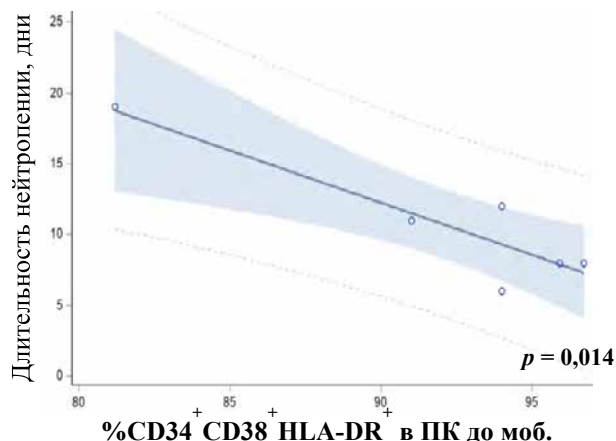
лейкафереза. У пациентов младше 60 лет длительность нейтропении была короче, чем у пациентов старше 60 лет (Рисунок 16 А) ( $p = 0,013$ ).

Содержание  $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$  клеток в ПК в 1й день лейкафереза у пациентов с лимфомами было прямо пропорционально длительности нейтропении. Чем больше была доля  $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$  клеток в ПК в 1й день лейкафереза, тем дольше отмечалось восстановление лейкоцитов ( $p = 0,009$ ) (Рисунок 16 Б). Однако такой зависимости от содержания  $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$  клеток в ЛК не было выявлено.



**Рисунок 16** – Длительность нейтропении у пациентов с лимфомами после ауто-ТГСК: А. В зависимости от возраста; Б. В зависимости от доли  $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$  в ПК в 1й день лейкафереза

У пациентов с Т-ОЛЛ при анализе факторов выявлена обратная связь между длительностью нейтропении и долей  $CD34^+CD38^+HLA-DR^+$  клеток в ПК до мобилизации ( $p = 0,014$ ) (Рисунок 21).



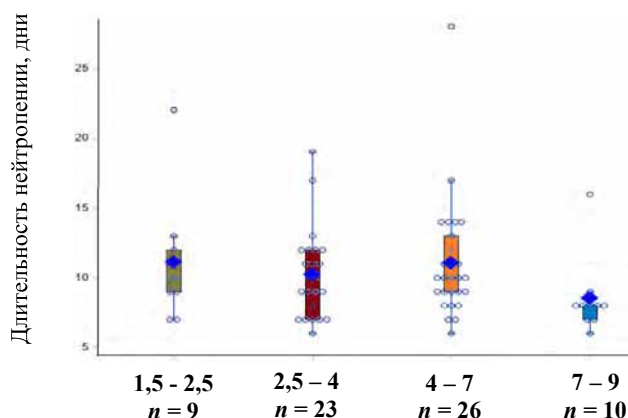
**Рисунок 17** – Длительность нейтропении у пациентов с Т-ОЛЛ после ауто-ТГСК в зависимости от доли  $CD34^+CD38^+HLA-DR^+$  клеток в ПК до мобилизации

### Длительность нейтропении в зависимости от дозы CD34<sup>+</sup> клеток

Общепринято, что минимальное количество CD34<sup>+</sup> клеток необходимое, для восстановления кроветворения после высокодозной ХТ, составляет  $2,0 \times 10^6/\text{кг}$  массы тела CD34<sup>+</sup> клеток [Giralt S. и соавт., 2014]. Однако остаётся по-прежнему спорным вопрос об оптимальном количестве CD34<sup>+</sup> клеток, обеспечивающим полноценное краткосрочное и долгосрочное восстановление всех ростков кроветворения [Jantunen E. и соавт., 2011].

В нашем исследовании количество перелитых CD34<sup>+</sup> клеток варьировало от 1,5 до  $9 \times 10^6/\text{кг}$  массы тела больного. Для анализа связи длительности нейтропении и дозы перелитых CD34<sup>+</sup> клеток были выбраны следующие диапазоны CD34<sup>+</sup> клеток: 1,5 - 2,5 ( $n = 9$ ), 2,5 - 4 ( $n = 23$ ), 4 - 7 ( $n = 26$ ), 7 - 9 ( $n = 10$ )  $\times 10^6/\text{кг}$  массы тела больного.

Статистически значимых отличий между количеством перелитых CD34<sup>+</sup> клеток и длительностью нейтропении нами выявлено не было, однако при трансфузии 7 - 9  $\times 10^6$  CD34<sup>+</sup> клеток на кг массы тела больного восстановление лейкоцитов происходило быстрее, чем при трансфузии меньших доз ( $p = 0,076$ ) (Рисунок 18).



**Рисунок 18** – Длительность нейтропении в зависимости от дозы перелитых CD34<sup>+</sup> клеток на  $10^6/\text{кг}$  массы тела больного.

### Заключение

Целью нашей работы было изучение субпопуляций CD34<sup>+</sup> СКК с различной степенью дифференцировки в ПК и ЛК у пациентов с гемобластозами и у доноров.

Показано, что CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клетки выявляются в ПК как до, так и после мобилизации СКК. После стимуляции гемопоэза, наряду с повышением общего содержания CD34<sup>+</sup> клеток, повышается доля CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток в ПК и в ЛК. Выявлена прямая связь между содержанием CD34<sup>+</sup>CD143<sup>+</sup> клеток в ПК до мобилизации и долей CD34<sup>+</sup> клеток в ЛК. Установлено, что наличие длительно репопулирующих СКК (CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-/+</sup>) в ПК до



мобилизации ассоциировано с большим содержанием  $CD34^+$  клеток в ЛК. Продемонстрировано, что скорость восстановления лейкоцитов в раннем посттрансплантационном периоде (до 30 дней) не коррелировала с дозой перелитых  $CD34^+$  клеток при ауто-ТГСК.

### Практические рекомендации

Общая характеристика СКК при ауто-ТГСК в онкологической практике должна включать не только подсчет суммарного количества  $CD34^+$  клеток в ПК и ЛК, но также необходима оценка субпопуляционного состава СКК.

Перед мобилизацией СКК целесообразно включить в алгоритм обследования определение количества  $CD34^+CD143^+$  клеток в ПК методом проточной цитометрии с целью прогнозирования эффективности сбора СКК.

### Выводы

1. Доля  $CD34^+CD143^+$  клеток в ПК до мобилизации прямо пропорциональна содержанию  $CD34^+$  клеток в ЛК в первый день лейкафереза ( $p = 0,003$ ). Одновременно с повышением общего количества  $CD34^+$  клеток в первый день лейкафереза увеличивалась доля  $CD34^+CD143^+$  в ПК.

2. Применение режима мобилизации ХТ + Г-КСФ, в отличие от Г-КСФ в монорежиме, приводит к достоверно большему увеличению  $CD34^+CD143^+$  клеток в ЛК ( $p = 0,03$ ). Развитие почечной недостаточности приводит к значимому снижению концентрации  $CD34^+CD143^+$  клеток в ЛК.

3. Доля всех длительно репопулирующих СКК с иммунофенотипом  $CD34^+CD38^-HLA-DR^{+/-}$  статистически значимо выше в первый день лейкафереза в ПК и в ЛК, чем до мобилизации ( $p < 0,001$ ). Существует прямая связь между длительно репопулирующими СКК в ПК до мобилизации и содержанием  $CD34^+$  клеток в ЛК. У пациентов с ММ популяция длительно репопулирующих СКК в первый день лейкафереза значимо меньше, чем у пациентов с лимфомами и Т-ОЛЛ.

4. В ПК до мобилизации, в ПК и в ЛК в первый день лейкафереза преобладают мультипотентные предшественники. Среди популяции мультипотентных клеток субпопуляция  $CD34^+CD38^+HLA-DR^-$  клеток значимо выше в периферической крови до мобилизации, чем в первый день лейкафереза ( $p < 0,001$ ).

5. Количество перелитых  $CD34^+$  клеток значимо не влияет на длительность нейтропении в раннем посттрансплантационном периоде (до 30 дней). У больных ММ, достигших ПР и ОХЧО, продолжительность нейтропении короче в сравнении с больными

достигшими ЧО ( $p = 0,01$ ). У больных лимфомами старше 60 лет длительность нейтропении была дольше, чем у больных моложе 60 лет ( $p = 0,013$ ).

#### Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Канаева М.Л. Особенности субпопуляционного состава мобилизованных стволовых кроветворных клеток у больных с опухолями кроветворной системы и доноров: экспрессия антигенов CD38, HLA-DR и CD143. / Канаева М.Л., Гальцева И.В., Паровичникова Е.Н., Давыдова Ю.О., Гапонова Т.В., Грибанова Е.О., Бальжанова Я.Б., Кузьмина Л.А., Троицкая В.В., Кравченко С.К., Звонков Е.Е., Менделеева Л.П., Савченко В.Г. // Онкогематология. – 2019 – Т.14. – №2. – С.48-58.

2. Канаева М.Л. Ренин-ангиотензиновая система в регуляции гемопоэза. / Канаева М.Л., Гальцева И.В., Накастоев И.М., Бальжанова Я.Б., Грибанова Е.О., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. // Онкогематология. – 2017. – №4. – С.50-56.

3. Накастоев И.М. Терапия больных множественной миеломой из группы высокого риска / Накастоев И.М., Рыжо В.В., Варламова Е.Ю., Обухова Т.Н., Грачев А.Е., Данилина А.М., Канаева М.Л., Новикова А.А., Грибанова Е.О. // Гематология и трансфузиология. – 2018 г. – Т.63. – №1. – С. 160-161.

4. Канаева М.Л. Экспрессия CD143 на CD34-позитивных клетках в периферической крови и лейкоконцентратах у больных гемобластозами при мобилизации / Канаева М.Л., Гальцева И.В., Паровичникова Е.Н., Давыдова Ю.О., Менделеева Л.П., Гапонова Т.В., Грибанова Е.О., Рыжко В.В., Савченко В.Г. // Гематология и трансфузиология. 2016. – Т. 61. – № 1- С. 124.

5. Balzhanova Ya. Expression of angiotensin-converting enzyme in patients with acute leukemias. / Balzhanova Ya., Zakharko E., Parovichnikova E., Dvirnik V., Gribanova E., Kanaeva M., Savchenko V. // HemaSphere. – 2019. – Т. 3. – S.1 – С.784

6. Kanaeva M. Expression of CD143 on CD34-positive cells in peripheral blood and apheresis products in patients with hematological malignancies at the mobilization of peripheral blood progenitor cells (PBPCS). / Kanaeva M., Galtseva I., Davydova Y., Kapranov N., Gaponova T., Mendeleeva L., Parovichnikova E., Savchenko V. // Haematologica. – 2016. – Т. 101. – № S1. – С. 637.

7. Nakastoev I. Experience VRD-PACE-like regimen in patients with primary refractory myeloma for peripheral stem mobilization / Nakastoev I, Ryzhko V., Novikova A, Balzhanova Y.,

Grachev A., Abramova T., Samtcova M., Vasilchenkova P., Danilina A., Kanaeva M., Gribanova E. // HemaSphere – 2019 г. – Т.3 – С. 978-979.

### Сокращения

АПФ – ангиотензин-превращающий фермент

Ауто- ТГСК – аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

ЛК – лейкоконцентрат

МкАТ – моноклональные антитела

ММ – множественная миелома

«НМИЦ гематологии» – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения

Российской Федерации

ПК – периферическая кровь

ПР – полная ремиссия

ОХЧО – очень хороший частичный ответ

РАС – ренин-ангиотензиновая система

СКК – стволовые кроветворные клетки

Т-ОЛЛ – острый Т-лимфобластный лейкоз

ХТ – химиотерапия

ЧО – частичный ответ

ISHAGE – International Society of Hematotherapy and Graft Engineering