

## Взаимосвязь между концентрацией циклоспорина в крови и тяжестью острой реакции «трансплантат-против хозяина» у детей после трансплантации стволовых клеток от подходящих родственных или неродственных доноров

П. Мартин<sup>1</sup>, Н. Блейзак<sup>1,3</sup>, Г. Сулле<sup>2</sup>, К. Галамбрун<sup>2</sup>, И. Бертран<sup>2</sup>, П. Майер<sup>3</sup>,  
Р. Джеллифф<sup>4</sup>, Г. Оланье<sup>1</sup>

<sup>1</sup> — Департамент фармации госпиталя Дебрусс, Лион, Франция;

<sup>2</sup> — Отделение детской иммуногематологии и пересадки костного мозга госпиталя Дебрусс, Лион, Франция;

<sup>3</sup> — Госпиталь Франшевилля, Франция;

<sup>4</sup> — Лаборатория прикладной фармакокинетики Университета Южной Калифорнии, Лос-Анжелес, США

Опубликовано в журнале *Bone Marrow Transplantation* 32:777-784, 2003.

Печатается в переводе с разрешения редакции журнала.

## Relationship between CsA trough blood concentration and severity of acute graft-versus-host disease after paediatric stem cell transplantation from matched-sibling or unrelated donor

Authors: P. Martin<sup>1</sup>, N. Bleyzac<sup>1,3</sup>, G. Souillet<sup>2</sup>, C. Galambrun<sup>2</sup>, Y. Bertrand<sup>2</sup>,  
P. H. Maire<sup>3</sup>, R. W. Jelliffe<sup>4</sup>, G. Aulagner<sup>1</sup>

<sup>1</sup> — Department of Pharmacy, Debrousse Hospital, Lyon, France;

<sup>2</sup> — Department of Paediatric Immuno-haematology and Bone Marrow Transplantation, Debrousse Hospital, Lyon, France;

<sup>3</sup> — ADCAPT, A. Charial Hospital, Francheville, France;

<sup>4</sup> — Laboratory of Applied Pharmacokinetics, University of Southern California, School of Medicine, Los Angeles, CA USA

Для того, чтобы определить оптимальные концентрации циклоспорина (CsA) перед следующим введением (trough blood concentrations, TBC), необходимые пациенту в ранний посттрансплантационный период, были проанализированы соотношения между значениями TBC и острой реакцией «трансплантат-против хозяина» (РТПХ) у детей после операции по трансплантации стволовых клеток (SCT). 94 пациентам стволовые клетки были пересажены от подходящих родственных доноров (сиссы) (MSD) (n=36), неподходящих родственных доноров (MMRD) (n=3) или от неродственных доноров (UD) (n=55). Профилактика РТПХ обычно включала CsA или его комбинацию с метотрексатом (MTX). Антитимоцитарный глобулин добавлялся к терапии в случае UD-SCT. Концентрация циклоспорина в крови измерялась иммуно-ферментным методом (EMIT assay), а мониторинг и корректировка режима дозирования осуществлялись на основе байесовского подхода. Значения TBC, относящиеся к первым неделям после трансплантации, были оценены ретроспективно для каждого пациента на основе байесовского фармакокинетического моделирования, а затем статистически соотнесены с РТПХ. В случае MSD-SCT средние значения TBC во время первых двух недель после трансплантации были  $42 \pm 10$  нг/мл у пациентов со II-IV степенью РТПХ против  $90 \pm 7$  нг/мл у пациентов с 0-I степенью РТПХ ( $p=0,001$ ). В случае UD или MMRD значения TBC были  $73 \pm 4$  нг/мл против  $95 \pm 8$  нг/мл, хотя этот тренд не был статистически значимым ( $p=0,284$ ). Среди пациентов со значениями TBC > 85 нг/мл не было случаев РТПХ II-IV степени, в 10 случаях была незначительная РТПХ, а в 30 ее не было вообще. Среди пациентов со значениями TBC < 65 нг/мл у 7/11 пациентов после MSD-SCT и у 4/18 после UD — или MMRD-SCT развилась РТПХ II-IV степени. Средние значения TBC, соответствующие каждой степени РТПХ, были: без РТПХ  $101 \pm 10$  нг/мл, незначительная  $77 \pm 11$  нг/мл, средняя  $61 \pm 13$  нг/мл и тяжелая  $56 \pm 15$  нг/мл ( $p < 0,001$ ). Эти результаты выявили выраженное соотношение между значениями TBC в ранний посттрансплантационный период и тяжестью РТПХ у детей, перенесших MSD- и UD-трансплантацию стволовых клеток.

## ВВЕДЕНИЕ

Аллогенная трансплантация стволовых клеток (SCT) применяется при лечении различных злокачественных гематологических заболеваний, апластической анемии, врожденных иммунодефицитных и метаболических синдромов. К сожалению, успех аллогенной трансплантации часто сводится на нет из-за рецидивов лейкемии и посттрансплантационной смертности (TRM) в результате реакции «трансплантант-против хозяина» (РТПХ), токсичности послеоперационной терапии и инфекций. Было идентифицировано большое число факторов риска, которые могут привести к развитию РТПХ [1-4]. Хотя в последнее время есть огромные достижения в профилактике, РТПХ продолжает оставаться значительной причиной смертности после операции по пересадки костного мозга [3, 4]. Считается, что РТПХ проявляется реже [1] и легче [5] у молодых пациентов, тем не менее, РТПХ II-IV степени возникает у 35% детей после пересадки костного мозга от подходящих родственных доноров (сисбсы) (MSD-BMT) при использовании стандартного режима дозирования циклоспорина А (CsA) [5]. Риск возникновения РТПХ значительно возрастает у детей в случае пересадки от неродственных доноров (UD-BMT), требующей интенсивной иммуносупрессорной терапии [6]. *Г. Сулле и соавт.* [7] только у 26% пациентов наблюдали РТПХ II-IV степени при использовании *in vivo* снижения числа Т-клеток и терапии CsA в комбинации с метотрексаном, несмотря на то, что в изучаемой ими когорте большинство трансплантаций было от HLA-неподходящих доноров.

Хотя РТПХ может явиться причиной смерти пациента, большинство смертных случаев у детей после операции SCT по поводу злокачественных заболеваний связано с рецидивами лейкемии: частота рецидивов (RR) достигает 41% в случае MSD-BMT при использовании стандартного режима дозирования CsA (3 мг/кг/сутки внутривенно, затем 6 мг/кг/сутки перорально) [8] и 37% — в случае UD-BMT [9]. Тем не менее, многие исследования продемонстрировали, что как острая [10-13], так и хроническая РТПХ [11, 12, 14-16] ассоциировались со снижением RR при аллогенной трансплантации костного мозга. Из-за позитивного влияния на клинические результаты эффекта трансплантант-против лейкемии» (GVL), связанного с РТПХ, последняя является желательной у пациентов со злокачественными заболеваниями. РТПХ III-IV степени ассоциируется с неприемлемыми значениями TRM [15]. Дополнительные исследования необходимы, чтобы найти наилучший режим дозирования циклоспорина, дающий возможность избежать тяжелых РТПХ, но, в то же время, не мешать появлению GVL эффекта [17]. Два рандомизированных клинических исследования у взрослых [18] и детей [8], подвергшихся трансплантации по поводу острой лейкемии, показали значительное влияние CsA на РТПХ и результаты лечения. Исследования продемонстрировали снижение RR и увеличение периодов до возникновения события (смерть или

рецидив) при анализе выживаемости методом Каплана—Мейера (EFS) в группах, получавших низкие дозы CsA, но, при этом, рост тяжести РТПХ.

Из-за фармакокинетической вариабельности [19], уровни циклоспорина в крови перед следующим введением (TBC) значительно различались у пациентов, получавших одинаковые режимы дозирования препарата. Было выявлено четкое соотношение между уровнями CsA в сыворотке [20] или крови [21] и случаями РТПХ. Значит, различия в клинических ответах, наблюдаемые у различных пациентов, получавших одинаковые режимы дозирования циклоспорина [8, 18], могут быть частично объяснены различиями в его концентрациях. А, значит, байесовский подход и корректировка режима дозирования циклоспорина по данным мониторинга могут быть более эффективными, чем фиксированный режим дозирования. Кроме того, это может помочь в профилактике РТПХ и сохранении, так называемого, противолейкемического эффекта. К сожалению, терапевтические рамки, используемые различными группами, мониторирующими терапию циклоспорином, остаются эмпирическими [22] и разнородными [17]. Только два исследования, включавшие в основном взрослых пациентов, показали положительное влияние мониторинга концентрации циклоспорина на инциденты РТПХ и клинические результаты [23, 24], но выводы этих исследований не могут быть прямо перенесены в педиатрическую практику. Индивидуализация режимов дозирования циклоспорина требует знаний о значениях эффективных концентраций препарата в крови. Целью этого исследования было прояснить соотношение между значениями TBC и РТПХ в популяции, включающей только детей, подвергшихся аллогенной MSD — или UD-SCT.

## ПАЦИЕНТЫ и МЕТОДЫ

**Пациенты и доноры.** С октября 1997 г. до октября 2001 г. 94 пациентам (58 мальчикам и 36 девочкам) в возрасте от 3 месяцев до 18 лет была проведена аллогенная трансплантация в госпитале Лиона (Франция). Показаниями для трансплантации были: злокачественные гемопатии (n=54), незлокачественные гемопатии (n=17), врожденные дефекты метаболизма (n=14), иммунодефициты (n=6) и другие (n=3). В 39 случаях пересадка была проведена от родственных доноров: 36 были HLA-идентичными и 3 неподходящими. В 55 случаях доноры были неродственные: 20 были HLA-подходящими для локусов A, B и DR, а 35 были HLA-неподходящими для 1-3 локусов. Стволовые клетки для пересадки были: неизмененный костный мозг от родственных доноров (n=39); стволовые клетки периферической крови (n=2), стволовые клетки пуповинной крови (n=2) и неизмененный костный мозг (n=51) неродственных доноров. Методы HLA типирования для пациентов и доноров были детально описаны *G. Souillet и соавт.* [7] Характеристики пациентов и доноров представлены в таблице 1.

**Подготовка к трансплантации.** Перед трансплантацией 20 пациентов получали ТВ1 в комбинации с этопосидом или другие препараты в 12 случаях. Другие пациенты получали цитотоксические препараты: бусульфан в комбинации с циклофосфамидом (CY) в 41 случае или другой препарат (ы) в 12 случаях. Только CY получали 9 пациентов.

**Профилактика РТПХ.** В случае MSD-BMT профилактика обычно включала CsA (n=9) или его комбинацию с коротким курсом MTX (n=16). Пациенты с талассемией получали CsA в комбинации с антитимоцитарным глобулином (ATG) (Thymoglobuline®, Imtix Sangstat, Лион, Франция) (n=6). ATG назначался до трансплантации (10–20 мг/кг) для частичного *in vivo* снижения числа Т-клеток. Профилактика РТПХ не проводилась 3 пациентам перед второй трансплантацией MSD-BMT. Два пациента получали CsA, MTX и ATG. В случае UD-BMT профилактика включала ATG в комбинации с MTX и CsA (n=34). С октября 2000 г. MTX больше не использовался, и профилактика включала CsA + ATG (n=21). Три пациента, пересадка которым была сделана от MMRD, получали комбинацию CsA + MTX + ATG. У большинства пациентов CsA сначала вводился внутривенно (8-часовые инфузии с начальной дозой 5 мг/кг/сутки со дня, предшествующего трансплантации, у пациентов с ALL начальная доза была 3 мг/кг/сутки). Когда появлялась возможность, пациенты переводились на пероральный прием CsA каждые 12 часов, а доза рассчитывалась индивидуально для каждого пациента. Обычно такой перевод осуществлялся на 14 день (медианное значение). Продолжительность терапии циклоспорином была 3 месяца в случае ALL, 6 месяцев — в случае других злокачественных и 9 месяцев — в случае незлокачественных заболеваний. Если диагностировалась РТПХ, терапия продлевалась еще на 3 месяца. MTX вводился внутривенно в дозе 15 мг/м<sup>2</sup> поверхности тела пациента в первый день, а затем в дозе 10 мг/м<sup>2</sup> в 3, 6 и 11 дни, (кроме анемии Фанкони — только 3 дозы). Если наблюдались побочные эффекты со стороны ЖКТ, вводились только три дозы MTX.

**Измерение концентрации CsA в крови.** Концентрация циклоспоринона в крови измерялась иммуно-ферментным методом (EMIT on Cobas MIRA analyser, Behring Diagnostic, Франция). Предел чувствительности метода был 30 нг/мл. Ошибка анализа может быть описана следующим выражением:  $SD = 0,001460 + 0,034560 \times C$  (где SD — стандартное отклонение ошибки измерения концентрации, C — измеренная концентрация). Во время внутривенной терапии концентрация CsA в крови измерялась дважды в неделю от дня +1 после трансплантации, при этом использовались пробы периферической венозной крови. При переходе на пероральное введение концентрация CsA в крови измерялась дважды в неделю в течение первого месяца после операции, при этом использовались пробы из центральных вен (кроме первых трех дней после перехода, когда использовались пробы периферической венозной крови).

**Индивидуализация режима дозирования CsA.** Файл с данными о проводимой терапии был создан для каждого пациента, получавшего CsA с помощью программы PASTRX из пакета п/п USC\*PACK [25]. Каждый такой файл содержал антропометрические данные и информацию о терапии: возраст, масса тела пациента, введенные дозы CsA, моменты времени введения, длительность инфузии, моменты времени взятия проб крови, значения измеренных концентраций препарата в крови. Индивидуальные значения фармакокинетических (ФК) параметров были оценены на основе двухкамерной модели байесовским методом MAP (Максимум Апостериорной Вероятности), также входящим в пакет программ USC\*PACK [26]. Этот метод позволяет смоделировать профиль изменения концентрации препарата во времени даже по 1–3 измеренным пробам в комбинации с данными о пациенте и априорной информации о поведении этого препарата в популяции (распределения значений ФК параметров, полученные на основе данных о прошлом опыте лечения «похожих» пациентов). Кроме того, принимается во внимание ошибка аналитического метода, поскольку при идентификации значений ФК параметров каждое измеренное значение концентрации «взвешивается» в соответствии с обратным значением дисперсии ошибки измерения этого уровня концентрации (см. выше полином, описывающий стандартную ошибку измерения концентрации). Такой подход позволяет принять во внимание степень доверия каждому отдельному измерению концентрации препарата в крови, увеличивая тем самым точность оценок идентифицируемых ФК параметров [27]. Индивидуальные значения ФК параметров используются затем для расчета будущих значений концентрации CsA в крови, а также участвуют в расчете значений доз, необходимых для достижения желаемой концентрации CsA в крови в нужный момент времени (терапевтическая цель). Поскольку не было точных данных об эффективных концентрациях циклоспоринона в крови в изучаемой популяции пациентов, выбор терапевтической цели в этом исследовании основывался на опыте участвующих в нем врачей. При этом основным принципом при установлении терапевтической цели для пациента был выбор значения ТВС циклоспоринона ниже 100 нг/мл (порядка 60–100 нг/мл) в случае, если противолейкемический эффект желателен, и выше 100 нг/мл (порядка 100–150 нг/мл), если противолейкемический эффект не нужен.

**Соотношение между концентрацией CsA и РТПХ.** Средние значения ТВС были оценены ретроспективно для каждого пациента с помощью MAP байесовского метода моделирования для различных периодов терапии циклоспориноном после трансплантации: 1) первая неделя, 2) вторая неделя, 3) среднее по первым двум неделям и 4) неделя из двух с минимальными значениями ТВС. Для пациентов, у которых наблюдалась РТПХ, были выделены два периода: 5) неделя до появления РТПХ и 6) все время приема препарата после трансплантации до появления РТПХ.

Статистический анализ выполнялся с применением пакета SPSS для Windows (версия 9.0, SPSS, Чикаго, США).

**Степени тяжести острой РТПХ.** Степень тяжести острой РТПХ была установлена на основе работы [28] и подтверждена подходящими гистологическими исследованиями. Все случаи РТПХ относились к раннему послетрансплантационному периоду.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

В случае MSD-SCT (n=36) частота появления РТПХ была оценена как 44,4%: степень I — 19,4% (n=7); степень II — 11,1% (n=4), степень III — 2,8% (n=1), степень IV — 11,1% (n=4). В табл. 2 представлено распределение РТПХ в случае злокачественных и незлокачественных заболеваний. Инциденты РТПХ II-IV степени возникали чаще у пациентов со злокачественными заболеваниями (31,6%) по сравнению с незлокачественными (17,7%). У пяти пациентов была тяжелая РТПХ. Частота незначительной РТПХ была 31,6% (n=6) у пациентов со злокачественными заболеваниями, но только 5,6% (n=1) при других заболеваниях. Частота РТПХ была 47,5% в случае HLA-неидентичной SCT (MMSD- и UD-SCT): степень I: 28,8% (n=17); степень II: 11,9% (n=7); степень III: 5,1% (n=3), степень IV: 1,7% (n=1). Как было опубликовано ранее, в случае MSD-SCT РТПХ возникает чаще у пациентов со злокачественными заболеваниями (22,5%), чем с незлокачественными (12,5%). Незначительная РТПХ возникала в обеих подгруппах соответственно 28,6% (n=10) и 29,2% (n=7). Наблюдалось только 4 случая тяжелой РТПХ.

Значения ТВС циклоспорина в определенные периоды после трансплантации у пациентов с РТПХ разной степени представлены в табл. 3. В случае MSD-SCT для всех рассматриваемых периодов ТВС были ниже у пациентов с РТПХ II-IV степени по сравнению с пациентами без РТПХ или с РТПХ I степени. Как показано в табл. 4, тренд был незначимым в случае HLA-неидентичной SCT. Значения ТВС циклоспорина были значительно ниже у пациентов с РТПХ I-IV степени против пациентов без РТПХ. Соотношения между значениями ТВС и степенью РТПХ для всех пациентов (n=95) представлены в табл. 5 и на рис. 1. Средние значения ТВС за первые две недели терапии были  $101 \pm 8$  нг/мл у пациентов без РТПХ,  $77 \pm 8$  нг/мл — у пациентов с незначительной РТПХ,  $61 \pm 8$  нг/мл — у пациентов с РТПХ средней тяжести и  $56 \pm 10$  нг/мл — у пациентов с тяжелой РТПХ. В течение второй недели значения ТВС были значительно выше, чем на первой неделе (кроме пациентов без РТПХ), возможно из-за того, что пациенты, у которых РТПХ появилась на второй неделе, получали более высокие дозы циклоспорина. Полученные результаты свидетельствуют, что обсуждаемая зависимость проявляется во все периоды терапии. Несмотря на межиндивидуальную вариабельность значений ТВС циклоспорина у пациентов с одинаковой степенью РТПХ, среднее различие было порядка 20-

25 нг/мл между пациентами без РТПХ и пациентами с незначительной РТПХ. Между незначительной и средней РТПХ различия в значениях ТВС были порядка 15-20 нг/мл. С другой стороны, различия между значениями ТВС оказались незначительными у пациентов со средней и тяжелой степенью РТПХ. Результаты по изучаемым периодам терапии: неделя до проявления РТПХ и период терапии от дня трансплантации до проявления РТПХ — значения ТВС были практически теми же, что и в течение первой недели после трансплантации. Для различных диапазонов значений ТВС (<65; 65 — 85, и >85 нг/мл), соответствующих первым двум неделям после трансплантации, было вычислено число пациентов с РТПХ. В диапазоне порядка 85 нг/мл не было средних и тяжелых РТПХ. При значениях выше этого порога у пациентов не было РТПХ (14 подходящие сибсы и 16 неродственные доноры или неподходящие родственные доноры) или же РТПХ была незначительной (3 и 7 пациентов соответственно). При значениях между 65 и 85 нг/мл РТПХ II-IV степени была как в случае MSD-SCT (n=2), так и в случае неродственных или неподходящих родственных доноров (n=5). Значения ТВС в диапазоне 65-85 нг/мл остаются эффективными для большинства случаев MSD-SCT: 5 пациентов без РТПХ, 1 — с незначительной и 2 — от средней до тяжелой РТПХ, но не в случае HLA-неидентичных SCT: 6 пациентов без РТПХ против 4 с незначительной и 7 — от средней до тяжелой РТПХ. При ТВС ниже 65 нг/мл у большинства пациентов наблюдалась РТПХ в случае MSD-SCT: 3 незначительных и 7 от средней до тяжелой РТПХ против одного пациента без РТПХ. Циклоспорин оставался эффективным у 8 пациентов без РТПХ и 6 пациентов с незначительной РТПХ в случае HLA-неидентичной SCT, но его активность была неодинаковой: у 4 пациентов была РТПХ от средней до тяжелой степени.

### ДИСКУССИЯ

В представленном исследовании проводимая профилактика РТПХ была неодинаковой. Тем не менее, исследование показало (это является содержанием следующей статьи), что среди многих клинических и фармакологических факторов риска появления РТПХ, значения ТВС CsA были одними из основных. В проведенном анализе учитываемыми факторами риска были: фармакологические качественные факторы (иммуносупрессия, вызванная только CsA, против комбинации CsA + MTX), количественные факторы, сфокусированные на количество CsA, получаемое пациентом (минимальная и максимальная концентрации в крови, площадь под ФК кривой), клинические факторы (возраст реципиента, пол реципиента, возраст донора, пол донора, донор женского пола — реципиент мужского против других комбинаций, подходящий пол против неподходящего). Тем же методом было выявлено незначительное влияние HLA-неидентичности в случае неродственных доноров, если пациент получал высокие дозы ATG (20 мг/кг). Эти неожиданные

результаты были впоследствии подтверждены клинической практикой, появление РТПХ удавалось предотвратить только «управляя» значениями ТВС CsA (мониторинг два-три раза в неделю в ранний после-трансплантационный период).

Проведенные более двадцатилет назад исследования не выявили корреляцию между концентрациями циклоспорина в крови и случаями РТПХ [29-31]. Тем не менее, качество аналитических методов до 1987 г. было недостаточно высоким, а исследования включали слишком мало пациентов. Впервые корреляция между ТВС и РТПХ была выявлена *E. Gluckman и соавт.* [32], в общем виде было показано, что только у пациентов с РТПХ значения ТВС циклоспорина были ниже. Другие исследования демонстрировали более низкий риск появления РТПХ, если ТВС CsA были выше 200-350 нг/мл (измерения в сыворотке, RIA [20, 33]) или выше 400 нг/мл (измерения в крови, RIA [34, 35]) при подходящих родственниках (сисбах). В работах [21, 36] был продемонстрирован более низкий риск РТПХ при значениях ТВС выше 250 нг/мл и 200 нг/мл соответственно в первые недели после трансплантации. В качестве профилактики РТПХ циклоспорин назначался в комбинации с коротким курсом МТХ, и ТВС циклоспорина измерялись хроматографически (HPLC). В сравнении с опубликованными ранее представленными здесь результаты показали, что даже низкие значения ТВС во время периода внутривенной терапии оказались достаточными для предотвращения средних и тяжелых РТПХ как в случае MSD-, так и в случае UD-BMT. При значениях ТВС выше 85 нг/мл во время первых двух недель после трансплантации у некоторых пациентов наблюдалась незначительная РТПХ, но не было ее более тяжелых проявлений. Это можно объяснить более низким значением среднего возраста реципиентов в изучаемой популяции по сравнению с другими, включающими как взрослых, так и детей, поскольку возраст реципиента известен как важный фактор риска РТПХ [1, 3]. Следовательно, детям, подвергшимся аллогенной SCT, могут потребоваться более низкие дозы циклоспорина по сравнению со взрослыми пациентами. С другой стороны, режим дозирования циклоспорина, рассчитанный на основе байесовского ФК мониторинга, позволяет поддерживать выбранный уровень ТВС более точно, чем обычный эмпирический мониторинг. Это также может привести к тому, что пациентам оказались достаточны уровни циклоспорина в крови не выше 85 нг/мл, которых старались достичь как можно скорее в течение первых дней после трансплантации и поддерживать так регулярно, как только возможно в течение первых недель. Тем не менее, выбор таких низких значений в качестве терапевтической цели должен быть сбалансирован возрастом реципиента и назначением подходящего числа высоких доз АТГ.

В случае MSD-BMT наблюдалось выраженное соотношение между значениями ТВС и РТПХ, несмотря на значительные различия в профилактике. Это под-

черкивает важную роль CsA в профилактике РТПХ. Впервые похожее соотношение было найдено в случае трансплантации от неродственных доноров, несмотря на интенсивную иммуносупрессию, включая *in vivo* снижение числа Т-клеток, которое обычно назначается в комбинации с CsA и МТХ. Тренд, наблюдаемый в отношении более низких значений ТВС у детей с РТПХ II-IV степени по сравнению со случаями без РТПХ или незначительной РТПХ, не был статистически значимым. Тем не менее, значения ТВС были значимо ниже у детей с РТПХ I-IV степени по сравнению с пациентами без РТПХ. Корреляция между значениями ТВС и РТПХ была установлена для случаев MSD-BMT, но для UD-BMT данных оказалось недостаточно.

Два предыдущих исследования, включавшие в основном взрослых пациентов, показали более высокую частоту случаев РТПХ II-IV степени, чем наблюдалось в представленной здесь когорте, несмотря на более высокие уровни ТВС в течение первых двух недель после трансплантации: 34% при значениях ТВС выше 200 нг/мл [21] и 21% — выше 250 нг/мл [36] соответственно. Кроме того, в данном исследовании РТПХ всех II-IV степеней происходили при уровнях ТВС ниже 85 нг/мл, в то время как РТПХ не наблюдалась при значениях ТВС порядка 110 нг/мл во время первых двух недель после операции. Это предполагает лучшую чувствительность и специфичность найденных в этом исследовании пороговых значений при условии применения точного байесовского метода для коррекции доз циклоспорина по данным его ТЛМ.

Было установлено, что значения RR ниже у пациентов с острой [10-13] или хронической РТПХ [11, 12, 14-16]. Тем не менее, РТПХ средней и, особенно тяжелой степени, ассоциируются с более высокими показателями смертности у взрослых [13, 37]. В случае трансплантации по поводу хронической миелогенной лейкемии (СМЛ) или острой лейкемии, так называемая оптимальная, «выживаемость без лейкемии» (*leukemia-free-survival, LFS*) была получена при незначительной РТПХ как в случае родственных [13, 15, 37], так и неродственных доноров [38]. С другой стороны, в исследовании [9] предполагалось, что только тяжелая РТПХ у детей должна быть предотвращена, а не незначительная или средней тяжести. К сожалению, не известен метод, который может помочь предотвратить только тяжелую РТПХ, много неопределенностей остается для выбора оптимальных режимов дозирования CsA с этой целью. Некоторые рандомизированные проспективные исследования выявили эффект низких доз CsA (1 мг/кг/сут. в/в) у пациентов с лейкемией и показали значительное снижение RR при росте случаев РТПХ II-IV степени [8, 18] и связанной с этим смертности [18]. Наконец, эти исследования продемонстрировали пределы возможностей стандартного режима дозирования циклоспорина для предотвращения рецидивов без роста тяжести инцидентов РТПХ. Эти заключения не выглядят удивительными, если принять во внимание ФК вариабельность цикло-

Таблица 1.

Характеристики пациентов и доноров

Характеристики	HLA-идентичный донор SCT		HLA-неидентичный донор SCT	
	Родственный	Неродственный	Родственный	Неродственный
Тип донора				
Число пациентов	36	55	3	
Возраст пациента (лет)				
медиана	9,8	6,9	2,7	
размах	0,6–18	0,3–18,5	2,2–14,3	
Пол пациента (муж/жен)	21/15	36/19	1/2	
Диагноз				
Злокачественные заболевания	19	33	2	
ALL	10	17	0	
AML	7	8	0	
СML	0	1	1	
MDS	2	6	0	
лимфома	0	1	1	
Незлокачественные	17	23	1	
апластическая анемия	3	2	0	
фанкони	3	3	0	
талассемия	4	0	0	
болезнь серповидных эритроцитов	2	0	0	
метаболические заболевания	3	10	1	
иммунодефициты	2	4	0	
другие	0	3	0	
Возраст донора (лет)				
медиана	8	40	31	
размах	1–27	24–53	4–44	
Пол донора (муж/жен)	18/18	29/21	1/2	
Подходящий пол	15	28	1	
Неподходящий пол (D → R)				
M → F	9	8	2	
F → M	12	14	0	
Пациент CMV-серопозитивный (Да/Нет)	12/24	11/39	0/3	
Пациент EBV-серопозитивный (Да/Нет)	16/19	25/18	3/0	
Донор CMV-серопозитивный (Да/Нет)	14/22	13/37	2/1	
Донор EBV-серопозитивный (Да/Нет)	18/22	47/1	2/1	
HLA-идентичный донор-сисб	36	0	0	
HLA-подходящий донор	0	20	0	
HLA-неподходящий донор				
1 несоответствующий локус (A, B, DR)	0	21	3	
2 несоответствующих локуса (A, B, DR)	0	9	0	
3 несоответствующих локуса (A, B, DR)	0	5	0	

спорина. До появления этого исследования не было установлено четкого соотношения между иммуносупрессорной терапией и тяжестью РТПХ. Несмотря на участие в процессе других иммуносупрессорных препаратов и индивидуальных факторов риска возникновения РТПХ, в этом исследовании было установлено значимое соотношение между значениями ТВС во время раннего послетрансплантационного периода и тяжестью РТПХ (чем ниже были значения ТВС, тем тяжелее были РТПХ).

Корреляция между периодом времени после трансплантации и риском РТПХ широко обсуждается в

литературе. Авторы [20] нашли соотношение для недели до проявления РТПХ. В соответствие с результатами [33] значения ТВС снижались в течение нескольких дней, предшествующих появлению тяжелой РТПХ. В исследовании [36] значения ТВС во время второй недели после трансплантации были ниже у пациентов с РТПХ II-IV степени, а авторы [39] пришли к выводу, что полученное количество CsA во время первой недели является определяющим. Результаты [21] показали, что риск РТПХ возрастает, если значения ТВС оказываются слишком низкими во время недели, предшествующей приживлению трансплантата. Авто-

ры [18] показали, что риск РТПХ возрастает в группе пациентов, получавшей низкие дозы циклоспорина в течение первых трех недель после трансплантации. Представленные здесь результаты демонстрируют значимое соотношение для некоторых изучаемых периодов: «независимых от времени» — первая и вторая недели после трансплантации, а также «зависимых от времени» периодов — неделя до проявления РТПХ и период после трансплантации, предшествующий диагностированию РТПХ. Эти результаты предполагают, что хорошо организованный мониторинг циклоспорина является важной процедурой в первые недели после трансплантации и, особенно, в течение второй недели, что обычно соответствует периоду, предшествующему приживлению.

Несмотря на важную роль ТВС в ранний послетрансплантационный период, процедуры ТЛМ циклоспорина в этот период, используемые в различных лечебных учреждениях, значительно различаются [17, 40]. Только в двух исследованиях было продемонстрировано положительное влияние мониторинга и корректировки режима дозирования циклоспорина на случаи РТПХ и клинические результаты [23, 24]. Тем не менее, обычно применяемые терапевтические цели (желаемые значения ТВС) кажутся слишком высокими с учетом возможной избыточной иммуносупрессии и риска инфекций (порядка 150–180 нг/мл) или их диапазоны слишком широкими (95–205 нг/мл). Выраженное соотношение, установленное в этом исследовании, между значениями ТВС

и тяжестью РТПХ позволяет предложить значения концентраций CsA в крови скорее в качестве терапевтических целей, чем терапевтических диапазонов: ТВС порядка 110 нг/мл — при незлокачественных заболеваниях и ТВС порядка 80 нг/мл — при злокачественных. Эти терапевтические цели могут применяться только в педиатрической практике и должны быть сбалансированы применением АТГ, кроме того, аналитический метод измерения концентраций CsA должен быть соответствующим. Эти достаточно низкие значения терапевтических целей могут быть интересны, с точки зрения, возможности избежать проблем с инфекциями, но это положение нуждается в более детальном изучении.

В заключение можно сказать, что в послетрансплантационный период получаемый режим дозирования циклоспорина связан с риском РТПХ, и этот режим может быть скорректирован по данным ТВС. Вместо того, чтобы просто сделать вывод, что значения ТВС пациента неадекватны, и изменить режим дозирования после этого, возможно более эффективной стратегией будет прогноз будущих концентраций CsA с тем, чтобы выбрать наилучший режим дозирования для достижения выбранной терапевтической цели. Последнее может быть сделано на основе байесовской МАР процедуры по данным ТЛМ, которые могут состоять даже из одного измерения концентрации препарата в крови. Этот метод ФК моделирования не требует проводить измерения концентрации препарата только после установления стационарного состояния.

Таблица 2.

Случаи РТПХ при различных донорах

Донор	Подходящие сибсы		Неродственные и неподходящие родственные	
	злокачественное (n=19)	незлокачественное (n=17)	злокачественное (n=35)	незлокачественное (n=23)
Острая РТПХ				
Нет	7 (36,8%)	13 (76,5%)	17 (48,6%)	13 (56,5%)
Степень I	6 (31,6%)	1 (5,9%)	10 (28,6%)	7 (30,4%)
Степень II	3 (15,8%)	1 (5,9%)	5 (14,3%)	2 (8,7%)
Степень III	0	1 (5,9%)	2 (5,7%)	1 (4,3%)
Степень IV	3 (15,8%)	1 (5,9%)	1 (2,9%)	0

Таблица 3.

ТВС CsA в крови перед следующим введением у пациентов с РТПХ II–IV степени против РТПХ 0–I степени в различные периоды после трансплантации (среднее значение ± стандартное отклонение, нг/мл)

Донор	Подходящие сибсы (n=36)			Неподходящие родственные и неродственные (n=58)		
	РТПХ 0/I (n=27)	РТПХ II/IV (n=9)	p (*)	РТПХ 0/I (n=47)	РТПХ II/IV (n=11)	p (*)
Неделя 1	89±9	38±10	0,002	93±10	65±6	0,165
Неделя 2	94±8	45±11	0,001	98±8	80±5	0,466
Недели 1+2	90±7	42±10	0,001	95±8	73±4	0,284
Неделя с min (1, 2)	75±7	38±10	0,005	82±7	64±5	0,330
7 дней перед РТПХ		36±11			65±10	
Трансплантация → РТПХ		38±11			68±7	

Примечание: \*) p – значения при использовании теста Манни–Уитни

Таблица 4.

Значения ТВС CsA в крови в различные периоды после трансплантации у пациентов с РТПХ I–IV степени против отсутствия РТПХ (среднее значение ± стандартное отклонение, нг/мл)

Донор	Подходящие сибсы (n=36)			Неподходящие родственные и неродственные (n=58)		
	Без РТПХ (n=20)	РТПХ I/IV (n=16)	p (*)	Без РТПХ (n=30)	РТПХ I/IV (n=28)	p (*)
Период после трансплантации						
Неделя 1	96±10	51±11	0,004	104±14	70±6	0,027
Неделя 2	98±9	59±11	0,002	106±11	84±6	0,078
Недели 1+2	97±7	54±10	0,001	104±12	77±6	0,041
Неделя с min (1, 2)	79±7	49±10	0,007	89±9	68±6	0,048
7 дней перед РТПХ		55±10			67±6	
Трансплантация → РТПХ		56±11			70±5	

Примечание: \*) p – значения при использовании критерия Стьюдента t

Таблица 5.

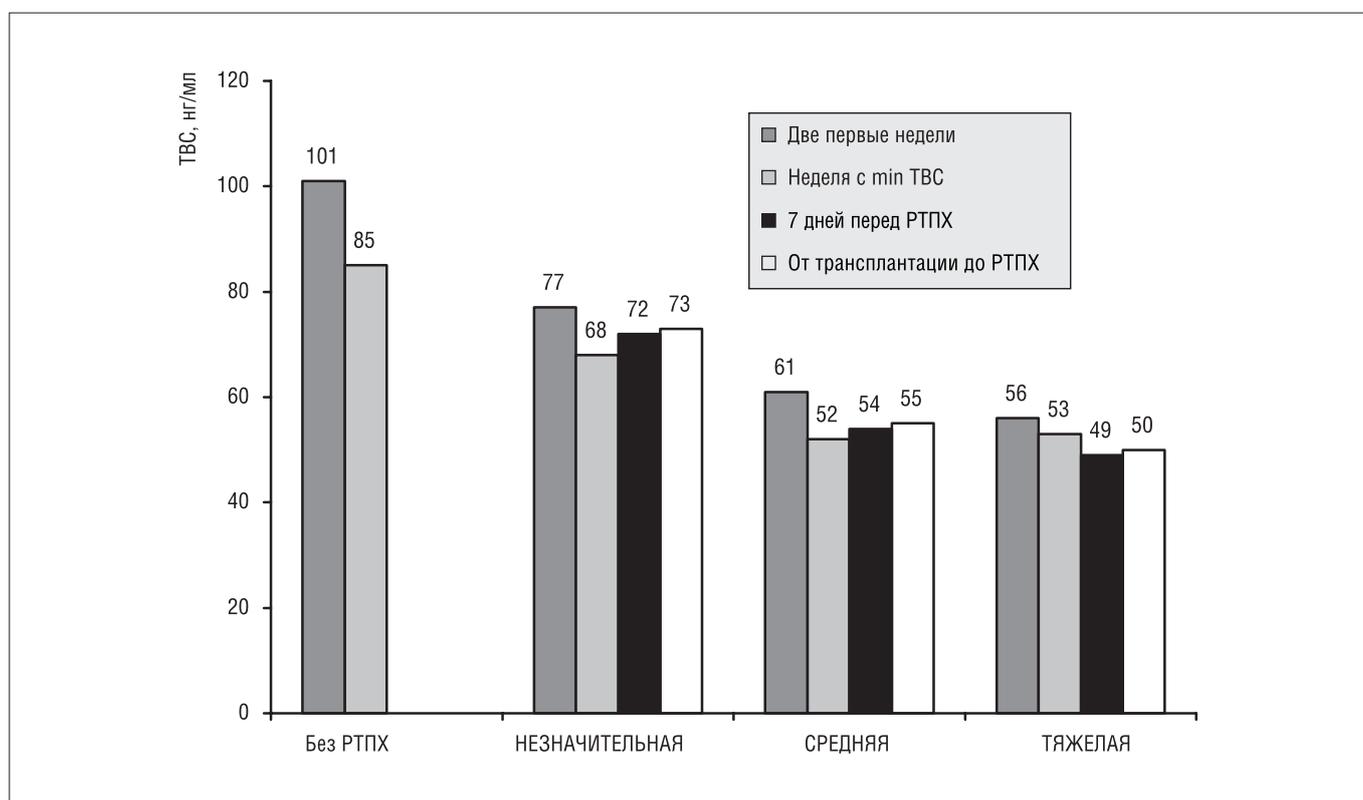
Значения ТВС CsA (нг/мл) и степени РТПХ для всех пациентов (n=94) в различные периоды после трансплантации

Период после трансплантации	Без РТПХ	I степень	II степень	II–IV степени	p (*)
Неделя 1	101±9	72±9	52±8	53±11	0,001
Неделя 2	103±8	85±8	70±10	57±10	0,001
Недели 1+2	101±8	77±8	61±8	56±10	<0,001
Неделя с min (1, 2)	85±6	68±8	52±8	53±10	0,002
7 дней перед РТПХ		72±7	54±11	49±11	0,052
Трансплантация → РТПХ		73±7	55±10	50±13	0,067

Примечание: \*) p – значения при использовании теста для линейного тренда

Рис. 1.

Средние значения ТВС (нг/мл) и тяжесть РТПХ в различные периоды после трансплантации



ССЫЛКИ:

1. Gale R. P., Bortin M. M., van Bekkum D. W. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 1987; 67: 397-406.
2. Weisdorf D., Hakke R., Blazar B. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation. *Transplantation* 1991; 51: 1197-1203.
3. Nash R. A., Pepe M. S., Storb R. et al. Acute graft-versus-host disease: analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate. *Blood* 1992; 80: 1838-1845.
4. Hägglund H., Bostrom L., Remberger M. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease in 291 consecutive HLA-identical bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16: 747-753.
5. Locatelli F., Uderzo C., Dini G. et al. Graft-versus-host disease in children: the AIEOP-BMT Group experience with Cyclosporin A. *Bone Marrow Transplant* 1993; 12: 627-633.
6. Balduzzi A., Gooley T., Anasetti C. et al. Unrelated donor marrow transplantation in children. *Blood* 1995; 86: 3247-3256.
7. Souillet G., Rey S., Bertrand Y. et al. Outcome of unrelated bone marrow donor searches in 174 children resulting in 45 patients transplanted in the HLA-matched and-mismatched situation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 31-43.
8. Locatelli F., Zecca M., Rondelli R. et al. Graft versus host disease prophylaxis with low-dose cyclosporine-a reduces the risk of relapse in children with acute leukaemia given HLA-identical sibling bone marrow transplantation: results of a randomised trial. *Blood* 2000; 95: 1572-1579.
9. Gustafsson A., Remberger M., Winiarski J. et al. Unrelated bone marrow transplantation in children: outcome and a comparison with sibling donor grafting. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 1059-1065.
10. Weiden P. L., Flournoy N., Thomas E. D. et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of bone marrow grafts. *N Engl J Med* 1979; 300: 1068-1073.
11. Sullivan K. M., Weiden P. L., Storb R. et al. Influence of acute and chronic graft-versus — host-disease on relapse and survival after bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment of acute and chronic leukaemia. *Blood* 1989; 73: 1720-28.
12. Horowitz M. M., Gale R. P., Soudel P. M. et al. Graft-versus-leukaemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75: 555-562.
13. Gratwohl A., Hermans J., Apperley J. et al. Acute graft-versus-host disease: grade and outcome in patients with chronic myelogenous leukaemia. Working party chronic leukemia of the european group for blood and marrow transplantation. *Blood* 1995; 86: 813-818.
14. Weiden P. L., Sullivan K. M., Flournoy N. et al. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1981; 304: 1529-1533.
15. Ringden O., Labopin M., Gluckman E. et al. Graft-versus-leukemia effect in allogeneic marrow transplant recipients with acute leukemia is maintained using cyclosporin A combined with methotrexate as prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 921 — 929.
16. Ringden O., Labopin M., Gluckman E. et al. Strong antileukemic effect of chronic graft-versus-host-disease in allogeneic marrow transplant recipients having acute leukemia treated with methotrexate and cyclosporine: The Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Transplant Proc* 1997; 29:733-734.
17. Peters C., Minkov M., Gardner H. et al. Statement of current majority practices in graft-versus-host disease prophylaxis and treatment in children. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 405-411.
18. Bacigalupo A., Van Lint M. T., Occhini D. et al. Increased risk of leukaemia relapse with high-dose cyclosporine A after allogeneic marrow transplantation for acute leukaemia. *Blood* 1991; 77: 1423-1428.
19. Tsunoda S. M., Aweeka F. The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 107-140.
20. Yee G. C., Self S. G., Mc Guire T. R. et al. Serum cyclosporine concentration and risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1988; 319: 65-70.
21. Ghalie R., Fitzsimmons W. E., Weinstein A. et al. Cyclosporine monitoring improves graft-versus-host disease prophylaxis after bone marrow transplantation. *Ann Pharmacother* 1994; 28: 379-383.
22. Hunter A. E., Bessell E. M., Russell N. Effective prevention of acute GVHD following allogeneic BMT with low leukaemic relapse using methotrexate and therapeutically monitored levels of cyclosporin A. *Bone Marrow Transplant* 1992; 10: 431-434.
23. Byrne J. L., Stainer C., Hyde H. et al. Low incidence of acute graft-versus-host disease and recurrent leukaemia in patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from sibling donors with methotrexate and dose-monitored cyclosporin A prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 541-545.
24. Carlens S., Aschan J., Remberger M. et al. Low-dose cyclosporine of short duration increases the risk of mild and moderate GVHD and reduces the risk of relapse in HLA-identical sibling marrow transplant recipients with leukaemia. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 629-635.
25. Laboratory of Applied Pharmacokinetics. USC\* Pack P. C. Collection Clinical Research Programs, Los Angeles. University of Southern California, School of Medicine, 1995, version 10.7.
26. Jelliffe R. W., Schumitzky A., Van Guilder M. et al. Individualizing drug dosage regimens: roles of population pharmacokinetic and dynamic models, Bayesian fitting, and adaptive control. *Ther Drug Monit* 1993; 15: 380-93.
27. Jelliffe R. W. Effect of assumptions concerning assay error patterns upon pharmacokinetic parameter values and model behavior. *J Vet Pharmacol Ther* 1994; 17:105-109.
28. Glucksberg H., Storb R., Fefer A. et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18: 295-304.
29. Barrett A. J., Kendra J. R., Lucas C. F. et al. Cyclosporine a as prophylaxis against graft-versus-host disease in 36 patients. *Br Med J* 1982; 285: 162-166.
30. Gratwohl A., Speck B., Wenk M. et al. Cyclosporine in human bone marrow transplantation. Serum concentration, graft-versus-host disease, and nephrotoxicity. *Transplantation* 1983; 36: 40-44.
31. Biggs JC, Atkinson K, Britton K et al. The use of cyclosporine in human marrow transplantation: absence of a therapeutic window. *Transplant Proc* 1985; 17: 1239-1241.
32. Gluckman E., Lokiec F., Devergie A. Pharmacokinetic monitoring of cyclosporine in allogeneic bone marrow transplants. *Transplant Proc* 1985; 17: 500-501.
33. Schmidt H., Ehninger G., Dopfer R. et al. Correlation between low CsA plasma concentration and severity of acute GVHD in bone marrow transplantation. *Blut* 1988; 57: 139-142.
34. Bandini G., Strocchi E., Ricci P. et al. Cyclosporine A: correlation of blood levels with acute graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Acta haematol* 1987; 78: 6-12.
35. Bogdanic V., Mrsic M., Plavsic F. et al. Blood cyclosporine concentration and risk of acute GVHD after allogeneic marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1988; 3: Suppl. 2: 67 (abstract).
36. Przepiorka D., Shapiro S., Schwingammer T. L. et al. Cyclosporine and methylprednisolone after allogeneic marrow transplantation: association between low cyclosporine concentration and risk of acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 1991; 7: 461-465.
37. Ringden O., Hermans J., Labopin M. et al. The highest leukaemia-free survival after allogeneic bone marrow transplantation is seen in patients with grade I acute graft-versus-host disease. *Leuk. Lymphoma* 1996; 24: 71-79.
38. Shaw B. E., Pay A. L., Potter M. N. et al. The presence of mild acute graft versus host disease in a T cell depleted unrelated donor transplant setting improves overall survival. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: Suppl 2: S39 (abstract).
39. Santos G. W., Tutschka P. J., Brookmeyer R. Cyclosporine plus methylprednisolone versus cyclophosphamide plus methylprednisolone as prophylaxis for graft-versus-host disease in 107 patients with leukemia: a randomized double-blind study in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Transplant* 1987; 1: 21-28.
40. Ruutu T., Niedervieser D., Gratwohl A. et al. A survey of the prophylaxis and treatment of acute aGVHD in Europe: a report of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) . *Bone Marrow Transplant* 1997; 19: 759-764.