

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

Памяти академика РАМН
и РАН А.И. Воробьева

In memory of Academician A.I. Vorob'ev,
Russian Academy of Medical Sciences
and Russian Academy of Sciences

Стабильность хронологии гранулоцитопоза в условиях цитотоксического стресса, вызванного иммунохимиотерапией R(G)-DHAP, при неходжкинских лимфомах

Stability of Granulopoiesis Chronology under R(G)-DHAP Immuno- chemotherapy-Induced Cytotoxic Stress in Non-Hodgkin's Lymphomas

К.А. Сычевская, С.К. Кравченко, Ф.Э. Бабаева,
А.Е. Мисюрина, А.М. Кременецкая, А.И. Воробьев

KA Sychevskaya, SK Kravchenko, FE Babaeva,
AE Misyurina, AM Kremenetskaya, AI Vorob'ev

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,
Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167

National Research Center for Hematology,
4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

РЕФЕРАТ

Актуальность. Хронология гранулоцитопоза на модели периодического кроветворения изучена подробно. Однако закономерности влияния цитотоксического стресса, вызванного химиотерапией и иммунотерапией, на ритмы развития стволовой клетки исследованы недостаточно. Взаимодействие противоопухолевых препаратов и нормальных клеток гемопоэза имеет значение для оценки степени выраженности нежелательных явлений химиотерапии. Кроме того, актуальность исследования гемопоэза в условиях цитотоксического стресса определяется необходимостью прогнозировать иммунную реактивность организма как условие эффективности агентов иммунной терапии, реализующих свое действие через систему клеточного иммунитета.

Цель. Исследование хронологических закономерностей динамики количества лейкоцитов после иммунохимиотерапии R(G)-DHAP при неходжкинских лимфомах.

Материалы и методы. На примере 39 курсов терапии у 19 пациентов с неходжкинскими лимфомами мы проанализировали динамику изменения числа лейкоцитов после иммунохимиотерапии по схеме R(G)-DHAP. Профилактика гранулоцитопении гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) проводилась после 18 из 39 циклов, в остальных случаях выполнялась запланированная ранее мобилизация гемопоэтических стволовых клеток по принятому протоколу.

Результаты. Срок активации самостоятельного гранулоцитопоза не зависит от проведения стимуляции Г-КСФ и общей дозы ростового фактора и соответствует в среднем 10-му или 11-му дню перерыва со дня окончания курса иммунохимиотерапии. Тенденция к уменьшению продолжительности агранулоцитоза при профилактическом применении Г-КСФ связана с транзиторным гиперлейкоцитозом в ранний срок после завершения

ABSTRACT

Background. Chronology of granulopoiesis based on periodic hematopoiesis model has been thoroughly studied. However, the pattern of influence of immunotherapy-induced cytotoxic stress on the biological rhythm of a stem cell development requires further investigation. The interaction of antitumor drugs with normal hematopoietic cells is relevant for assessing the intensity of chemotherapy adverse events. Besides, there is a demand for studying hematopoiesis under cytotoxic stress to predict immunological reactivity as a condition for efficacy of immunotherapeutic agents, the effect of which is based on cell immunity.

Aim. To study the chronological pattern of leukocyte count dynamics after R(G)-DHAP immunochemotherapy in non-Hodgkin's lymphomas.

Materials & Methods. The dynamics of leukocyte count changes after R(G)-DHAP immunochemotherapy was analyzed using the data of 39 treatment courses in 19 non-Hodgkin's lymphomas patients. After 18 out of 39 cycles of treatment granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) was administered to prevent granulocytopenia, in other cases the previously planned hematopoietic stem cell mobilization was performed according to the accepted protocol.

Results. Time to activation of spontaneous granulopoiesis depends neither on G-CSF stimulation, nor on the total dose of growth-stimulating factor and corresponds on average to Day 10 or Day 11 of the break from the last day of immunochemotherapy. The tendency of shorter agranulocytosis duration on prophylactic use of G-CSF is associated with transient hyperleukocytosis at an early stage after completing immunochemotherapy. Regimens with platinum-based drugs, like R(G)-DHAP, are suggested to be combined with immunochemotherapeutic agents in patients with the failure of first-line chemotherapy. The time interval preceding myelopoiesis activation within the first days of the break be-

иммунохимиотерапии. Программы на основе препаратов платины по типу R(G)-DHAP служат вероятной основой для комбинации с агентами иммунного противоопухолевого воздействия у пациентов с неудачами химиотерапии первой линии. Можно предположить, что интервал времени, предшествующий периоду активации миелопоэза в первые дни межкурсового перерыва, будет благоприятствовать инициации терапии препаратами иммунного воздействия после химиотерапии второй линии.

Заключение. Определение динамики гранулоцитопоза после цитотоксического стресса, вызванного иммунохимиотерапией R(G)-DHAP, позволяет планировать оптимальный режим введения Г-КСФ и прогнозировать оптимальные сроки иммунного противоопухолевого воздействия в сочетании с химиотерапией.

Ключевые слова: периодическое кроветворение, математическая модель гемопоэза, неходжкинские лимфомы, химиотерапия, иммунная терапия, Г-КСФ, противоопухолевый иммунитет, R(G)-DHAP.

Получено: 15 ноября 2020 г.

Принято в печать: 25 февраля 2021 г.

Для переписки: Ксения Андреевна Сычевская, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167; тел.: +7(910)409-79-44; e-mail: sychevskaya-ka@yandex.ru

Для цитирования: Сычевская К.А., Кравченко С.К., Бабаева Ф.Э. и др. Стабильность хронологии гранулоцитопоза в условиях цитотоксического стресса, вызванного иммунохимиотерапией R(G)-DHAP, при неходжкинских лимфомах. Клиническая онкогематология. 2021;14(2):204–19.

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-2-204-219

tween the courses is likely to contribute to the initiation of treatment with immunotherapeutic drugs after second-line chemotherapy.

Conclusion. The determination of granulopoiesis dynamics under R(G)-DHAP immunochemotherapy-induced cytotoxic stress enables to plan the optimum G-CSF regimen and to predict the optimum timing of immune antitumor effect combined with chemotherapy.

Keywords: periodic hematopoiesis, mathematical hematopoiesis model, non-Hodgkin's lymphomas, chemotherapy, immunotherapy, G-CSF, antitumor immunity, R(G)-DHAP.

Received: November 15, 2020

Accepted: February 25, 2021

For correspondence: Kseniia Andreevna Sychevskaya, 4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; Tel.: +7(910)409-79-44; e-mail: sychevskaya-ka@yandex.ru

For citation: Sychevskaya KA, Kravchenko SK, Babaeva FE, et al. Stability of Granulopoiesis Chronology under R(G)-DHAP Immunochemotherapy-Induced Cytotoxic Stress in Non-Hodgkin's Lymphomas. Clinical oncohematology. 2021;14(2):204–19. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-2-204-219

ВВЕДЕНИЕ

Изучение взаимодействия противоопухолевой терапии и нормальных клеток гемопоэтической системы имеет значение для оценки степени выраженности нежелательных явлений цитостатических препаратов. Агранулоцитоз и ассоциированная с ним высокая вероятность инфекционных осложнений, тромбоцитопения с риском развития геморрагического синдрома ограничивают интенсивность лечения и, соответственно, приводят к снижению его эффективности. Совершенствование заместительной терапии компонентами донорской крови, внедрение в клиническую практику рекомбинантных факторов роста предвосхитили и обусловили появление новых высокодозных программ лекарственного противоопухолевого воздействия. В этом контексте многочисленные исследования прикладного характера, посвященные изучению кроветворения в условиях цитотоксического стресса, позволили определить примерные сроки цитопении и спланировать схемы сопроводительного лечения.

В то же время фундаментальные аспекты динамики гемопоэза, которые могут быть первично рассмотрены на примерах из клинической практики и детально изучены в экспериментальных работах, представляют самостоятельный интерес. Феномен

периодического кроветворения как система сменяющих друг друга периодов активации и угнетения пролиферативного потенциала стволовой кроветворной клетки хорошо известен по циклической нейтропении. Однако возможные последствия его сочетания с депрессией костномозгового кроветворения при проведении программного противоопухолевого лечения широко не обсуждаются. По нашему убеждению, существование внутренних ритмов развития стволовых клеток не может не оказывать влияния на закономерности миелосупрессии в подобной ситуации. Подтверждением этому служат результаты математического моделирования гранулоцитопоза, продемонстрировавшие значимость явления резонанса для периодов максимальной цитопении и интервалов между курсами иммунохимиотерапии.

Помимо практической задачи снижения токсичности и теоретического интереса актуальность исследования динамики гемопоэза в условиях цитотоксического стресса определяется возможностью лечебного воздействия на саму опухоль, в частности, с применением новых агентов иммунной терапии, например ингибиторов иммунных контрольных точек, аутологичных CAR T-лимфоцитов или активно развивающегося в последние годы направления онколитической терапии. Эффективность всех перечисленных вариантов напрямую зависит от клеточных иммунных

реакций и реализации собственного противоопухолевого ответа. Прогнозирование иммунной реактивности организма на отдельных этапах течения заболевания необходимо, чтобы определить оптимальный период проведения подобного лечения, а в случае комбинации с цитотоксическими препаратами — планировать точные временные интервалы между химиотерапией и иммунной терапией для достижения максимального эффекта и минимизации осложнений.

Принято считать, что основная роль в противоопухолевом ответе отведена Т-лимфоцитам и NK-клеткам. Исследование динамики фракций лимфоцитов после иммунохимиотерапии нами проводилось, и работа находится на этапе подготовки к публикации. Однако изменение качественных и количественных характеристик любой клеточной популяции в гемопоэтической системе не может быть изолированным и, несомненно, находится в тесной взаимосвязи со всем множеством лейкоцитов. Нейтрофилы, количество которых в первую очередь определяет размах от лейкоцитоза до лейкопении после цитотоксического воздействия, в большей степени специфичны для защитных реакций, направленных на бактериальные антигены. Однако секреция эндогенного гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора (Г-КСФ), введение рекомбинантного Г-КСФ и стимуляция гранулоцитопоэза сопровождаются активацией параллельных цитоки-

новых каскадов, в частности системы интерферона и, таким образом, имеют прямые выходы на Т-клеточный иммунитет и противоопухолевый ответ.

Преследуя цель комплексной оценки иммунной реактивности организма в условиях цитотоксического стресса, соответствующих обстоятельствам внедрения методов иммунной терапии, в настоящей работе мы ставили задачу изучения динамики общего количества лейкоцитов после курсов R(G)-DHAP. Подобные программы на основе препаратов платины считаются общепринятым вариантом лечения второй линии при неудаче предшествующей химиотерапии первой линии и, вероятно, могут послужить основой для комбинации с разнообразными новыми агентами иммунного воздействия на опухоль.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Группы пациентов и дизайн исследования

Обследование и лечение пациентов проводили в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ в отделении интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с привлечением клинических лабораторий и отделений инструментальной диагностики центра. Все больные дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Таблица 1. Характеристика пациентов, включенных в исследование

Пациент №	Ф.И.О.	Пол, возраст (лет)	Диагноз	Поражение костного мозга в дебюте	Курсы иммунохимиотерапии, предшествовавшие R(G)-DHAP	Соответствие курса R(G)-DHAP порядковому номеру серии измерений
1	А.Н.И.	Ж, 39	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-B № 2, R-CHOP № 2	R-DHAP № 1 — 1, R-DHAP № 2 — 2, R-DHAP № 3 — 19
2	Б.С.Н.	М, 52	ЛМЗ	Да	R-CHOP № 4, R-BAC № 4	R-DHAP № 1 — 20, R-DHAP № 2 — 21
3	Б.З.М.	Ж, 39	ФЛ 3А типа	Нет	R-CHOP № 4	R-DHAP № 1 — 22, R-DHAP № 2 — 3
4	Щ.Е.В.	Ж, 48	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-EPOCH № 6	R-DHAP № 1 — 23, R-DHAP № 2 — 4
5	Я.Е.В.	Ж, 54	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-EPOCH № 4	R-DHAP № 1 — 24, R-DHAP № 2 — 5, R-DHAP № 3 — 6
6	В.А.В.	М, 64	ФЛ, трансформация в ДВКЛ, ранний рецидив	Нет	R-EPOCH № 6 (в дебюте)	G-DHAP № 1 — 25, G-DHAP № 2 — 7, G-DHAP № 3 — 8
7	А.Л.А.	Ж, 55	ФЛ 3В типа, трансформация в ДВКЛ	Нет	R-EPOCH № 6	R-DHAP № 1 — 34, R-DHAP № 2 — 13
8	Н.О.В.	М, 37	ФЛ 1–2-го типа, ранний рецидив	Да	R-CHOP № 6 (в дебюте)	G-DHAP № 1 — 35, G-DHAP № 2 — 14, G-DHAP № 3 — 15
9	А.Т.Э.	М, 43	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-EPOCH № 4	R-DHAP № 1 — 36, R-DHAP № 2 — 16, R-DHAP № 3 — 17
10	К.Ю.А.	М, 56	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-EPOCH № 4	R-DHAP № 1 — 37
11	Р.О.В.	Ж, 31	ЛМЗ	Да	R-B № 6	R-DHAP № 1 — 38, R-DHAP № 2 — 39
12	Б.Е.П.	Ж, 62	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-CHOP № 4	R-DHAP № 1 — 32, R-DHAP № 2 — 12
13	Б.Е.А.	Ж, 40	ФЛ, трансформация в ДВКЛ, ранний рецидив	Нет	R-CHOP № 4 (в дебюте), R-DHAP № 2 (в рецидиве)	R-DHAP № 3 — 33
14	Е.В.В.	Ж, 44	ФЛ 1–2-го типа, поздний рецидив	Нет	R-CHOP № 6 (в дебюте), R-CHOP № 4 (в рецидиве)	R-DHAP № 1 — 26
15	К.А.А.	М, 56	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-EPOCH № 6	R-DHAP № 1 — 27, R-DHAP № 2 — 9
16	П.А.В.	М, 52	ФЛ 3В типа, трансформация в ДВКЛ	Да	Блоки А-В-А-В (m-NHL-BFM-90), R-DHAP № 1	R-DHAP № 2 — 10
17	З.О.П.	Ж, 43	ЛМЗ	Да	R-B № 6, R-DHAP № 1	R-DHAP № 2 — 29
18	М.Е.Я.	Ж, 55	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-EPOCH № 4	R-DHAP № 1 — 30, R-DHAP № 2 — 11
19	Р.А.П.	М, 63	ФЛ 1–2-го типа	Да	R-CHOP № 4	R-DHAP № 1 — 31

ДВКЛ — диффузная В-крупноклеточная лимфома; ЛМЗ — лимфома из клеток маргинальной зоны; ФЛ — фолликулярная лимфома.

	Период терапии, дни																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22		
	Профилактика Г-КСФ																							
1	1,95								0,8	0,9	0,6	0,7	1,5	3,23										
Δ1	1,35								0,2	0,3	0	0,1	0,9	2,63										
2	2,89							3	1,4	1,18	2,1							4,48						
Δ2	1,71							1,82	0,22	0	0,92							3,3						
3	18				3,9			0,94	7,7	4,8	3,6		20											
Δ3	17,06				2,96			0	6,76	3,86	2,66		19,06											
4	4,9			15,6				1,9	2,27															
Δ4	3			13,7				0	0,37															
5	6,03				2,82			2,8	2,2		1,8				5,4									
Δ5	4,23				1,02			1	0,4		0				3,6									
6	6,68							4,7	3,74				4,27											
Δ6	2,94							0,96	0				0,53											
7		10,5																						
Δ7		9,35																						
8	3,63																							
Δ8	3,03																							
9	10,07																							
Δ9	8,37																							
10		9,38																						
Δ10		8,88																						
11	6,13																							
Δ11	5,13																							
12	12,9																							
Δ12	10,52																							
13	7,87																							
Δ13	6,16																							
14	5,84																							
Δ14	4,04																							
15	3,56																							
Δ15	2,37																							
16	6,45																							
Δ16	3,66																							
17	5,95																							
Δ17	4,55																							
18	4,24																							
Δ18	1,31																							
Мини-мальное значение	1,95	9,38	4,3	1,92	1,16	1,4	1,8	3,1	3,3	2,19	0,6	1,65	0,94	0,8	0,9	0,6	0,7	1,35	3,23	1,98	3,33	7,11	4,48	3,13

Рис. 1. Индивидуальные значения количества лейкоцитов после иммунохимиотерапии R(G)-DHAP с последующей профилактикой гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ). Полу жирным красным шрифтом отмечены показатели количества лейкоцитов (дни выполнения измерения), в которые происходила активация самостоятельного гранулоцитоза, согласно принятому нами определению (см. текст). В строках, выделенных розовым цветом, указаны расчетные значения Δ

Fig. 1. Individual leukocyte counts after R(G)-DHAP immunochemotherapy with subsequent granulocyte colony-stimulating factor (Г-КСФ) prophylaxis. Bold red indicates the values on adjacent days (measurement days), on which activation of spontaneous granulopoiesis occurred, according to our definition (see text). The pink-highlighted lines contain the calculated Δ values

	Период терапии, дни											
	RDHAP				1	2	3	4	5	6	7	
	Мобилизация и сбор аутоГСК											
19	6,09			2,6		4,17		2,64		1,72		
Δ19	5,43			1,94		3,51		1,98		1,06		
20		2,85		2,13		1,27			0,65	0,46		
Δ20		2,59		1,87		1,01			0,39	0,2		
21	2,67	3,11		0,71		0,82		1,32		4,8		
Δ21	2,09	2,53		0,13		0,24		0,74		4,22		
22	3,17								4,25			
Δ22	2,23								3,31			
23		5,36		6,4					4,46			
Δ23		2,86		3,9					1,96			
24	5,07						3,33		3,7	4,2		
Δ24	1,74						0		0,37	0,87		
25	4,12			4,5		3,5		0,64	0,7	0,9		
Δ25	3,52			3,9		2,9		0,04	0,1	0,3		
26	8,88					7,33						
Δ26	7,82					6,27						
27	5,33							5,02		2,2		
Δ27	3,73							3,42		0,6		
28	2,76								2,18			
Δ28	2,13								1,55			
29	0,98	0,9	1,4		1,5			1,44		0,59		
Δ29	0,83	0,75	1,25		1,35			1,29		0,44		
30	8,65			3,16		2,4	2,28		1,7	1,62		
Δ30	8,2			2,71		1,95	1,83		1,25	1,17		
31	3,08					10,04						
Δ31	2,37					9,33						
32	5,36			4,18				3,4		2,5		
Δ32	2,86			1,68				0,9		0		
33	6,57					1,08						
Δ33	5,77					0,28						
34	3,14						3,4		2,2			
Δ34	1,42						1,68		0,48			
35	5,41					10,75	10,28			1,2		
Δ35	4,43					9,77	9,3			0,22		
36		5,13					6,08			3,09		
Δ36		3,33					4,28			1,29		
37	9,6			5,6						2,8		
Δ37	7,6			3,6						0,8		
38	2,17				5,1		1,77					
Δ38	1,63				4,56		1,23					
39	5,05				7,62					0,53		
Δ39	4,53				7,1					0,01		
Минимальное значение	0,9	1,4	4,18	0,71	1,08	0,82	2,28	0,64	0,65	0,59	0,46	0,32

Рис. 2. Индивидуальные значения количества лейкоцитов после иммунохимиотерапии R(G)-DHAP с последующей стимуляцией Г-КСФ и мобилизацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоГСК). Полу жирным красным шрифтом отмечены показатели смежных дней, в которые происходила активация самостоятельного гранулоцитопоэза, согласно принятому нами определению (см. текст). Голубым цветом отмечены дни, в которые проводилась стимуляция Г-КСФ. В строках, выделенных розовым цветом, указаны расчетные значения Δ. В качестве замечания следует отметить, что у некоторых пациентов, которым не проводилась профилактика Г-КСФ, тенденция к спонтанному увеличению количества лейкоцитов проявлялась на 2–4-й день перерыва, однако она носила преходящий характер. Попытка начала стимуляции Г-КСФ в эти дни с целью мобилизации была безуспешной, как это произошло в наблюдении № 21. Следует признать ошибочной тактику преждевременного введения Г-КСФ на основании исключительно показателей гемограммы и без учета внутренних ритмов гранулоцитопоэза. С уверенностью объяснить причину транзиторного повышения числа лейкоцитов на 2–4-й день после окончания иммунохимиотерапии мы на настоящий момент не можем

Период терапии, дни														
8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Мобилизация и сбор аутоГСК														
2,1	1,32	1,24	0,8	0,66	0,86	1,21	2	3,9	11,2					
1,44	0,66	0,58	0,14	0	0,2	0,55	1,34	3,24	10,54					
	0,37		0,26	0,5		1,2	2	6,2	14			6,57		5,56
	0,11		0	0,24		0,94	1,74	5,94	13,74			6,31		5,3
2,6		0,58		2,3		2,67								
2,02		0		1,72		2,09								
1,9	1,46	0,94	1,13	2,1	3,3									
0,96	0,52	0	0,19	1,16	2,36									
	3,2		3	2,5	3	7,2	17,1			5,9				
	0,7		0,5	0	0,5	4,7	14,6			3,4				
3,9	3,5	3,8	12	9,6										
0,57	0,17	0,47	8,67	6,27										
0,6	1,3	0,8	2,5	6,69	16,8		12	9,3						
0	0,7	0,2	1,9	6,09	16,2		11,4	8,7						
			1,12	1,06	2,6		24,32							7,16
			0,06	0	1,54		23,26							6,1
	2,1		1,7	1,6			33,9							
	0,5		0,1	0			32,3							
1,3		0,63	0,77		0,8	2,6		16,3						
0,67		0	0,14		0,17	1,97		15,67						
0,32		0,15	0,18	0,19	0,5		6,52	13,3	25,1	14,5				2,01
0,17		0	0,03	0,04	0,35		6,37	13,15	24,95	14,35				1,86
1,1	1	0,89	0,88	0,6	0,49	0,45	0,7	1	1,7	3,8	6,4			
0,65	0,55	0,44	0,43	0,15	0,04	0	0,25	0,55	1,25	3,35	5,95			
0,9	0,71	0,72	0,74		1,8									
0,19	0	0,01	0,03		1,09									
	2,9	3	7,3	6					12,9					
	0,4	0,5	4,8	3,5					10,4					
1,17	0,8	0,8	1	1,3	2,9	10,5								
0,37	0	0	0,2	0,5	2,1	9,7								
	3,7	3,87	1,72	1,8	2	3,7		8,8	8,41					
	1,98	2,15	0	0,08	0,28	1,98		7,08	6,69					
0,98	1,34	1,3	1,7	2,5					4,88					
0	0,36	0,32	0,72	1,52					3,9					
	2,8		2,19	2,4	1,83	1,8			8,93					
	1		0,39	0,6	0,03	0			7,13					
	2	2	2,1	2		3,4								
0	0	0,1	0			1,4								
		0,7	0,71	0,54	0,63	0,9			10,2					2,99
		0,16	0,17	0	0,09	0,36			9,66					2,45
	0,58	0,52	0,8		2,2	5,8	21,6							
	0,06	0	0,28		1,68	5,28	21,08							
0,37	0,15	0,18	0,19	0,49	0,45	0,7	1	1,7	3,8	6,4	6,57	2,99	2,01	

Fig. 2. Individual leukocyte counts after R(G)-DHAP immunochemotherapy with subsequent G-CSF stimulation and autologous hematopoietic stem cell mobilization (аутоГСК). Bold red indicates the values on adjacent days, on which activation of spontaneous granulopoiesis occurred, according to our definition (see text). Blue indicates the days of G-CSF stimulation. The pink-highlighted lines contain the calculated Δ values. It should be noted that some patients who did not receive G-CSF prophylaxis showed the tendency for spontaneous increase of leukocyte count on Days 2–4 of the break, however, it was fragile. The attempt at starting G-CSF stimulation on those days, aimed at mobilization, failed, as shown in case #21. It should be admitted that too early G-CSF administration based solely on leukocyte count and disregarding the internal granulopoiesis rhythms was wrong. At present we are not able to reliably explain the reason for transient increase of leukocyte count on Days 2–4 after completing immunochemotherapy

Динамика изменения числа лейкоцитов после проведенной иммунохимиотерапии R(G)-DHAP проанализирована на примере 39 курсов у 19 пациентов (табл. 1).

Интенсивность химиотерапии, предшествовавшей R(G)-DHAP, и кумулятивная миелотоксичность были сравнимы в каждом случае, кроме пациента № 16 и больных, получавших терапию с бендамустином. У большей части пациентов, за исключением 5 человек, в дебюте заболевания был поражен костный мозг. У больных фолликулярной лимфомой поражение костного мозга носило преимущественно очагово-интерстициальный характер с паратрабекулярным расположением лимфоидной инфильтрации. Ко времени проведения R(G)-DHAP санация костного мозга не достигнута только у пациентки № 1.

Профилактика гранулоцитопении Г-КСФ проводилась после 18 из 39 курсов R(G)-DHAP, в остальных случаях у пациентов была запланирована мобилизация гемопоэтических стволовых клеток по принятому в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ протоколу в рамках подготовки к высокодозной химиотерапии с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. Сроки начала стимуляции Г-КСФ в процессе подготовки к трансплантации соответствовали появлению первых признаков разрешения миелотоксического агранулоцитоза.

Статистический анализ

Подготовка иллюстративного материала и статистическая обработка данных проводились на основе программного обеспечения Microsoft Excel и Statsoft Statistica, версия 13. Анализ значимости различий между медианами измерений каждого дня курса и межкурсового перерыва проводился путем попарных сравнений при использовании непараметрического критерия Манна—Уитни. Различия признавались значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Профилактика гранулоцитопении Г-КСФ проводилась после 18 из 39 курсов R(G)-DHAP. В исследованной нами выборке минимальные значения количества лейкоцитов без профилактики Г-КСФ были ниже ($0,15$ vs $0,6 \times 10^9/\text{л}$) и этот минимум сохранялся в течение более продолжительного времени (рис. 1 и 2). Уменьшение длительности агранулоцитоза при применении Г-КСФ, по нашему наблюдению, было определено не ранним его разрешением, а более поздним началом. Последнее оказалось обусловлено отсроченным от момента завершения иммунохимиотерапии развитием лейкопении, которая была вызвана индуцированной пролиферацией миелоидных предшественников, обладающих чувствительностью к ростовым факторам кроветворения и резистентных к действию цитостатических препаратов.

Время появления первых признаков активации самостоятельного гранулоцитопоэза было определено нами как день, в который был зафиксирован более высокий по сравнению с предыдущим показатель количества лейкоцитов вне связи с введением

Г-КСФ. Согласно полученным в нашем исследовании результатам, этот срок не зависел ни от факта проведения стимуляции Г-КСФ, ни от общей дозы ростового фактора и варьировал от 9-го до 12-го дня перерыва после окончания курса иммунохимиотерапии R(G)-DHAP, соответствуя в среднем 10-му или 11-му дню. Это позволяет заключить, что Г-КСФ оказывает влияние только на количество пролиферирующих клеток и ускоряет транзит лейкоцитов из костного мозга в кровоток, но не нарушает временных закономерностей дифференцировки. Данная особенность, какой бы обыденной она ни казалась, крайне важна для понимания, поскольку указывает на стабильность хронологии гемопоэза и возможность измерения временных интервалов последовательной смены ключевых событий в системе пролиферации клеток.

Абсолютные показатели количества лейкоцитов являются индивидуальным параметром и обусловлены костномозговым резервом, поэтому не могут служить универсальной характеристикой динамических изменений кроветворения, определенных в первую очередь относительными величинами. Для последующего анализа мы использовали расчетное значение, обозначенное символом Δ , равное разнице количества лейкоцитов в выбранной точке и минимального количества лейкоцитов за период наблюдения. Именно изменение Δ отражает закономерности, которые, по нашему убеждению, являются фундаментальными.

На рис. 3 представлены индивидуальные кривые изменения Δ количества лейкоцитов у пациентов с профилактикой Г-КСФ. Обращает на себя внимание индуцированный гиперлейкоцитоз перед развитием лейкопении. На рис. 4, обобщающем динамику числа лейкоцитов при мобилизации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоГСК), отчетливо заметна тенденция к развитию гиперлейкоцитоза после разрешения лейкопении, что обусловлено дозозависимой стимуляцией миелопоэза Г-КСФ в указанные сроки.

При сравнении расчетных значений медианы Δ лейкоцитов в группах пациентов с профилактикой Г-КСФ и мобилизацией аутоГСК не было выявлено значимых различий по дням программы R(G)-DHAP в соответствии с критерием Манна—Уитни (рис. 5). Показатели медианы и среднего были рассчитаны только при условии наличия не менее 5 наблюдений во временной точке. Средние значения выборок не совпадали с медианами из-за высокой гетерогенности индивидуальных наблюдений. С учетом ограниченного числа пациентов и невозможности использования параметрической статистики средние значения для последующего анализа не принимались.

На рис. 6 представлены графики изменения количества лейкоцитов по медиане Δ у пациентов с профилактикой Г-КСФ и мобилизацией аутоГСК. Указанные кривые практически идентичны и накладываются друг на друга, за исключением преобладания линии профилактики Г-КСФ со 2-го по 5-й день межкурсового перерыва, обусловленного вкладом индуцированного гиперлейкоцитоза. Как уже было сказано, отсутствие статистически значимых различий между кривыми подтверждено результатами парных сравнений. От-

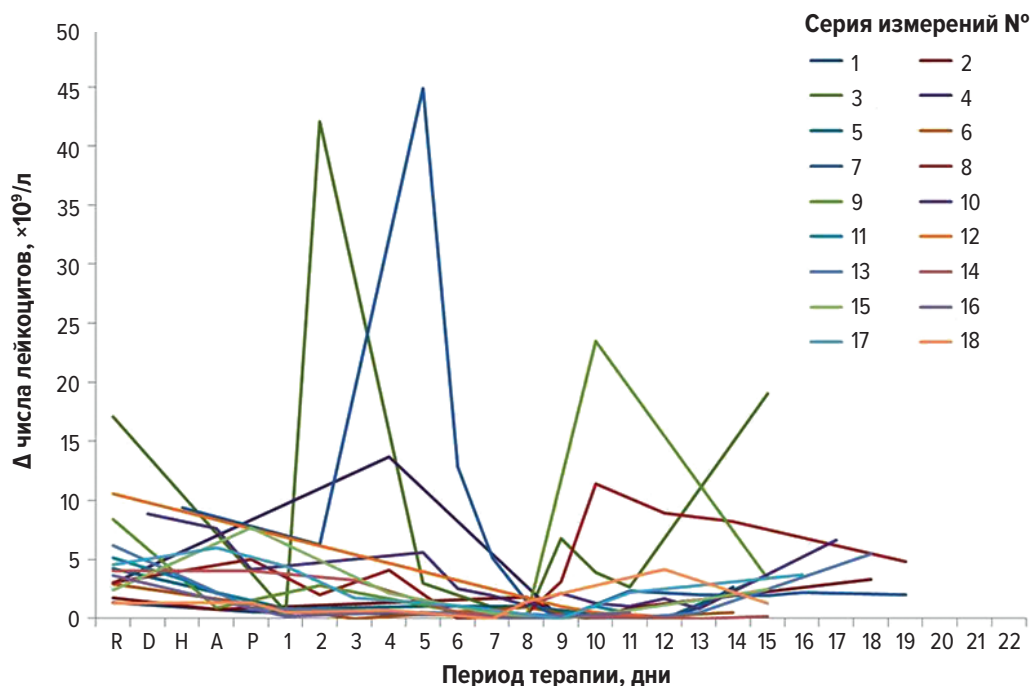


Рис. 3. Динамика количества лейкоцитов после курсов R(G)-DHAP с профилактикой Г-КСФ

Fig. 3. Leukocyte count dynamics after R(G)-DHAP courses with G-CSF prophylaxis

четливо видно, что независимо от времени введения Г-КСФ сроки восстановления количества лейкоцитов одинаковые. Начало самостоятельного гранулоцитопоза совпадает с 10–11-м днем перерыва после последнего дня иммунохимиотерапии, а формирование плато лейкопении происходит к 8-му дню.

ОБСУЖДЕНИЕ

В представленном исследовании, выполненном на ограниченной выборке пациентов, мы затронули несколько фундаментальных вопросов гематологии, на которых считаем необходимым остановиться подробнее и дополнительно раскрыть наше понимание их феноменологии в контексте полученных результатов и данных литературы.

Хронология гемопоэза

Рассматривая постоянство интервалов между повреждающим воздействием химиотерапии и восстановлением различных клеточных популяций, мы предположили возможность существования определяющих это постоянство закономерностей кроветворения. Конечно, фиксированный период времени от однократного цитотоксического воздействия до появления нового поколения клеток является естественным следствием физиологических сроков пролиферации, дифференцировки и биологии клеточного цикла. Однако сочетание «микроритмов» отдельных субъединиц в системе, какой является гемопоэз как совокупность стволовых клеток и их дочерних популяций, предполагает возможность объединяющего «макроритма». Феномен периодического кроветворения в понимании взаимных смен активации и угнетения кроветворения известен в клинической

практике уже более века и изучен на многочисленных случаях цитопений, имеющих циклический характер, о которых будет сказано далее [1]. Кроме того, было показано, что даже вариации количества лейкоцитов у здоровых людей носят характер правильной закономерности [2]. Аналогия сменяющих друг друга периодов уменьшения и увеличения количества клеток крови и известных в высшей математике вариантов колебательных функций послужила стимулом к началу математического моделирования гемопоэза.

Математические модели кроветворения, в частности гранулоцитопоза, — это приведенное к виду математических формул описание состояния клеточных популяций последовательных стадий дифференцировки в количественном отношении. Целевым результатом моделирования является определение гипотетической динамики численности исследуемой клеточной популяции, другими словами, функции dN/dt , где N — количество клеток, а t — переменная времени, поэтому математическое описание гемопоэза наиболее часто выражается в системе дифференциальных уравнений [3]. Методы дифференциального исчисления позволяют находить значение N при любом значении t при известных параметрах описывающей зависимости; таким образом, решением уравнения становится кривая динамики N . Количество параметров и характер их взаимной связи факультативны и отвечают как общим требованиям соответствия реальным биологическим процессам, так и частным требованиям конкретных задач конкретного исследования, что определяет сложность дифференциальных уравнений, необходимость учета запаздывающего аргумента и т. п. Дифференциальные уравнения с запаздывающим аргументом часто используются для описания биологических процессов, при которых текущее состояние системы зависит от ее предшествующего состояния,

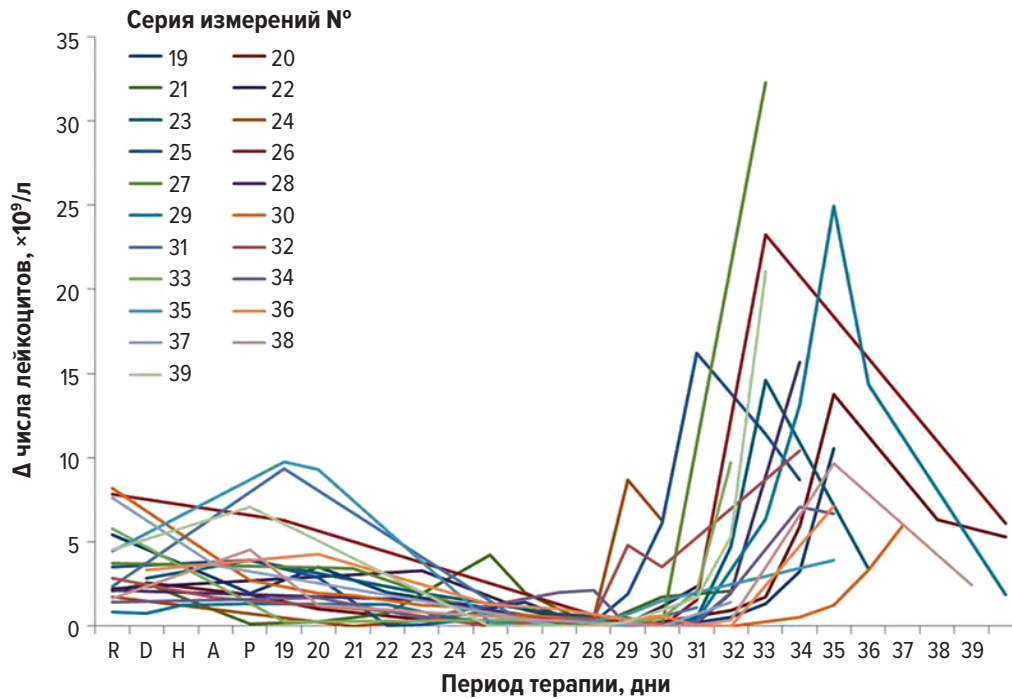


Рис. 4. Динамика количества лейкоцитов после курсов R(G)-DHAP с последующей стимуляцией Г-КСФ и мобилизацией аутоГСК

Fig. 4. Leukocyte count dynamics after R(G)-DHAP courses with subsequent G-CSF stimulation and auto-HSC mobilization

отделенного временным интервалом — собственно задержкой, или запаздыванием [1].

Не существует универсальной математической модели, однако каждая из них включает в себе минимально необходимый объем простейшей схемы клеточной пролиферации и дифференцировки. Численность клеточной популяции определена совокупностью прироста за счет дифференцировки из предшествующих стадий и клеточного деления внутри популяции (что, прежде всего, имеет значение для самообновления популяции стволовых клеток, но в определенных условиях может быть также применимо к описанию умножения митотического пула миелоидного ростка), а также убыли за счет апоптоза и дифференцировки в последующие стадии [4]. В общем случае каждый из приведенных четырех процессов играет роль одного из слагаемых дифференциального уравнения для изучаемой клеточной популяции и может быть выражен в виде отдельной формулы или константы в зависимости от целей исследования. Экспоненциальная зависимость — обязательный компонент математических моделей кроветворения, т. к. экспоненциальная фаза роста отражает фундаментальную характеристику митотического деления клетки. Поскольку как минимум скорость и интенсивность дифференцировки служат одновременно функцией не только времени, но и численности смежных клеточных популяций, дифференциальные уравнения в пределах одной модели могут быть объединены в систему из нескольких уравнений, количество которых соответствует числу описываемых популяций.

Математические модели являются только теоретическим описанием реальности, однако соответствие рассчитанных на их основе значений тем, которые мы можем наблюдать и фиксировать в практике, продемонстрированное во многих работах, доказывает их

состоятельность. Достижение указанного соответствия становится возможным путем формулировки и решения дифференциальных уравнений той или иной сложности. Необходимо признать, что общий принцип этих уравнений независимо от конкретной формы отражает внутренние законы функционирования биологической системы. Анализ этих законов, осознание которых затруднительно при прямом наблюдении в силу заслоняющего эффекта случайных и индивидуальных влияний, в чистом виде в пределах математической модели позволяет иначе взглянуть на фундаментальные основы кроветворения и представить некоторые известные феномены, не имеющие объяснения, естественным следствием общего закона.

Возможность циклического кроветворения определяется самим качеством дифференциальных уравнений, решение которых при определенном сочетании параметров описывает колебательную функцию [5]. При стабильности всех включенных в дифференциальное уравнение параметров их соотношение сохраняется также неизменным и однозначно приводит его решение к виду прямой, т. е. функция dN/dt остается постоянной при любых значениях t . Отклонение любого из параметров вносит изменение в выражение, которое является решением дифференциального уравнения, и от качества этого изменения зависит результирующий вид кривой. Однократное воздействие нарушает равновесие внутри системы дифференциальных уравнений и приводит к транзитному изменению кривой dN/dt , которое носит характер затухающих осцилляций [6]. При продолжающемся влиянии измененного параметра на исходное равновесие циклическость становится фиксированным качеством системы.

Итак, циклический характер гемопоэза не проявляется при относительно стабильных параметрах, соответствующих физиологической норме. Возмож-

Число лейкоцитов, ×10 ⁹ /л	Период терапии, дни																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22			
Профилактика Г-КСФ, медиана	3,85	2,11	2,78	0,53	2,8	2,11	2,96	0,83	0,4	0,22	0,46	0,82	0,67	2,44	2,94										
Профилактика Г-КСФ, среднее	4,96	3,47	3,15	1,14	10,8	4,22	11,0	2,92	0,66	1,24	3,57	1,08	0,71	4,56	2,94										
Мобилизация аутоГСК, медиана	3,19	2,59	2,71	1,95	0,9	0,87	0,68	0,57	0,45	0,09	0,18	0,2	0,43	1,69	11,4	7,89	8,4								
Мобилизация аутоГСК, среднее	3,8	2,41	3,05	2,9	0,99	1,18	0,84	0,64	0,48	0,3	0,94	1,22	1,9	2,41	12,5	8,09	9,73								
Общая медиана	3,59	2,73	2,11	2,71	0,68	2,4	1,77	1,1	1,25	0,54	0,68	0,49	0,36	0,31	0,34	0,2	0,49	1,69	3,5	6,51	7,13	3,4			
p для сравнения медиан (тест Манна-Уитни)	0,39	НО	НО	НО	0,71	НО	0,5	НО	0,4	0,16	НО	НО	0,98	0,92	0,06	0,12	НО	0,63	НО	0,33	0,24	НО	НО	НО	НО

Рис. 5. Динамика количества лейкоцитов по медиане и среднему значению Δ в общей выборке и в отдельных группах пациентов с профилактикой Г-КСФ и мобилизацией аутоГСК. В желтой строке представлены значения p для парного сравнения медиан двух групп аутоГСК — аутологичные гемопоэтические стволовые клетки; Г-КСФ — гранулоцитарный колонистимулирующий фактор; НО — не определено.

Fig. 5. Leukocyte count dynamics based on the median and mean Δ values in the total sample and individual groups of patients during G-CSF prophylaxis and auto-HSC mobilization. The yellow line contains p values for paired comparison of medians of both groups аутоГСК — autologous hematopoietic stem cells; Г-КСФ — granulocyte colony-stimulating factor; НО — not determined.

ность его реализации возникает при нарушении этой стабильности. Обращаясь к биологическим основам, отметим, что достаточно изменения лишь одного компонента. Последний может быть определен отклонением внутреннего параметра от нормального значения (например, при патологии жизнеспособности клетки) или появлением внешнего воздействия (например, химиотерапии или введения ростового фактора). В перечисленных условиях на практике цикличность является спутником исключительно «ненормы», отчего складывается ложное впечатление о вторичности цикличного кроветворения, рассматриваемого в качестве следствия, в то время как на самом деле имеет место только проявление скрытого потенциала.

Классическим практическим примером периодического кроветворения является циклическая нейтропения — врожденное заболевание, наследуемое по аутосомно-доминантному типу, для которого характерны периодические колебания количества элементов крови миелоидной линии, выраженные в наибольшей степени в популяции нейтрофильных гранулоцитов [7]. Период осцилляций в среднем соответствует 21 дню. Число тромбоцитов и ретикулоцитов изменяется незначительно, но параллельно нейтрофилам, в то время как для цикла моноцитов характерны колебания в противофазе — количество этих клеток достигает максимума во время агранулоцитоза. Синдром периодической нейтропении был описан в 1910 г. [8]. Первые математические модели циклического гемопоэза появились в конце 1960-х годов и на протяжении последующих десятилетий совершенствовались [9], что позволило распространить полученные результаты на другие примеры периодических болезней крови и кроветворения в целом. Уравнения, описывающие циклический характер нейтропении, и значения параметров системы, необходимые для воспроизведения клинических результатов, первоначально были основаны на эмпирических данных. Однако они помогли понять этиологию синдрома и отнести его к патологии созревания предшественников нейтрофилов, а не к нарушению этапа их периферической циркуляции. Таким образом, была подтверждена одна из двух доминирующих на то время гипотез.

В 1999 г. стала известна генетическая основа циклической нейтропении, которой оказалась мутация гена *ELA-2*, кодирующего белок ELANE, эластазу нейтрофилов, сериновую протеазу специфических гранул [10]. Повреждение ELANE приводит не только к утрате функциональной противомикробной активности гранулоцитов, но и обуславливает снижение жизнеспособности миелоидных предшественников [11]. В математике это означает увеличение значения параметра, описывающего убыль клеточной популяции за счет апоптоза. Таким образом, действительно, изменение единственного фактора в системе математической модели приводит к возникновению и сохранению периодических осцилляций. Интересным представляется тот факт, что мутация гена *ELA-2* определяет развитие еще одного наследственного заболевания, а именно тяжелой врожденной нейтропении [12]. На генетическом уровне эти болезни неразличимы, однако клиническое их течение значительно отличается. Для тяжелой врожденной нейтро-

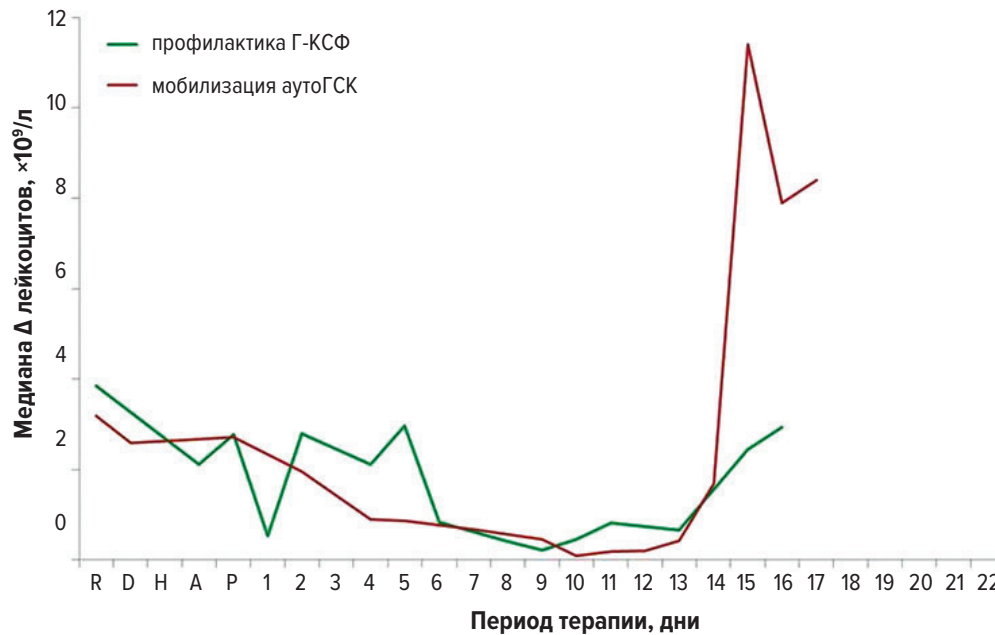


Рис. 6. Динамика количества лейкоцитов по медиане Δ в группах пациентов с профилактикой Г-КСФ и мобилизацией аутоГСК — аутологичные гемопоэтические стволовые клетки; Г-КСФ — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор.

Fig. 6. Leukocyte count dynamics based on the median Δ value in patients with G-CSF prophylaxis and auto-HSC mobilization — autologous hematopoietic stem cells; Г-КСФ — granulocyte colony-stimulating factor.

пении нехарактерна цикличность кроветворения [13]. Этот факт дополнительно подтверждает, что только определенное сочетание качественных и количественных изменений параметров системы приводит к проявлению «ритма», возможно обусловленного индивидуальной пенетрантностью генов, контролирующих гемопоэз, а также наличием побочных, тоже индивидуальных, факторов.

Аналогом циклической нейтропении является синдром «серой колли» — единственная естественная животная модель периодического гемопоэза. Это заболевание собак породы колли или австралийский хилер, которое сопровождается осцилляциями количества клеток миелоидного ростка с интервалом в 12–15 дней [14]. Реализация функции протеазы ELANE зависит от ее транспорта в гранулы нейтрофилов, процесса, который регулируется белком AP3. Мутации в гене, кодирующем AP3, определяют развитие синдрома [15]. Фенотипически болезнь серой колли сопровождается депигментацией шерсти, определяющей характерный окрас, который и послужил названием заболевания.

Еще одним клиническим примером периодического кроветворения является циклическая тромбоцитопения — патология, по вероятной причине развития подобная нарушению соотношения дифференцировки и апоптоза миелоидных предшественников при циклической нейтропении, однако без определенного до настоящего времени конкретного патогенетического механизма [1]. Наследственный характер заболевания не подтвержден при исследовании семейного анамнеза немногочисленных пациентов, что, тем не менее, не исключает существования неизвестных спорадических генетических мутаций в основе синдрома. Циклическая тромбоцитопения часто протекает под маской идиопатической

тромбоцитопенической пурпуры, рефрактерна к классическим схемам лечения этого заболевания, но может быть скорректирована терапией агонистами рецепторов тромбопоэтина [16]. Принципы математических моделей периодической нейтропении были с успехом перенесены на случаи циклической тромбоцитопении и показали полное соответствие расчетных и наблюдаемых значений [17, 18].

Мы перечислили примеры заболеваний, для которых характерна цикличность кроветворения в рамках поликлонального гемопоэза. Опухолевая трансформация существенно изменяет свойства нормальной схемы развития и дифференцировки клетки, однако существует убедительное доказательство, что даже в этой ситуации не происходит полного уничтожения внутреннего ритма системы. Периодическая форма хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) относится к редким синдромам, и к настоящему времени описано не более трех десятков пациентов с этой патологией. По сути она является лишь частным динамическим проявлением классического ХМЛ, сохраняя все черты злокачественной опухоли, в частности наличие Ph-хромосомы [19]. Осцилляции количества лейкоцитов при периодической форме ХМЛ происходят с периодом, равным 40–80 дням. С той же частотой, но не столь драматически изменяется число тромбоцитов и ретикулоцитов, подтверждая отношение цикличности к этапу дифференцировки миелоидных предшественников [20].

Возможность проявления ритма гемопоэза обусловлена уникальным для каждого случая опухоли сочетанием динамических показателей созревания и дифференцировки клеток. По сравнению с циклической нейтропенией, где имеет место наложение патологического отклонения одного параметра на физиологическую норму, выборка пациентов с ХМЛ

более гетерогенная, что определено индивидуальными характеристиками опухолевого клона. Вероятность возникновения периодических форм заболевания ниже при необходимости совпадения большего количества независимых факторов. На наш взгляд, это объясняет редкость цикличности даже при ХМЛ, одном из самых частых вариантов опухолей системы крови. Кроме того, для надежной идентификации ритма и исключения случайных осцилляций существенное значение имеет длительность наблюдения, минимально равная двум предполагаемым периодам колебаний [20]. Так, например, при цикле, соответствующем 30 дням, для формирования обоснованных заключений необходимо 2 мес. мониторинга показателей гемограммы. С использованием математического аппарата возможно определение количества промежуточных точек исследования, достаточного для достижения статистически значимых выводов [20]. В силу длительного течения ХМЛ представляется наиболее удачной моделью циклического опухолевого кроветворения. К сожалению, состояние большинства пациентов с другими онкогематологическими заболеваниями на момент постановки диагноза нередко требует немедленного начала терапии, что ограничивает возможность определения собственных параметров развития опухолевой клетки.

Мы упомянули только те достоверные клинические примеры, которые в силу хронического течения заболеваний прослежены путем прямого наблюдения на продолжительном временном интервале. Воздействие цитотоксических препаратов, несомненно, препятствует исследованию предсуществующей цикличности кроветворения. Оно может оказаться и провоцирующим фактором, поскольку нарушает стабильность системы и увеличивает вероятность возникновения осцилляций [21]. При курсовом режиме лечения собственная периодичность гемопоэза не подлежит визуализации вследствие доминирующего воздействия химиотерапии, однако в случае режима постоянного введения или приема препарата она может быть идентифицирована [22]. В подобных условиях особое значение приобретает математическое моделирование как единственный вариант определения внутренних параметров гемопоэза и их взаимодействия с химиотерапией.

Безусловно, математическое моделирование клинических процессов наиболее интересно с точки зрения прогнозирования поведения системы при воздействии того или иного фактора, что обуславливает возможности теоретического планирования терапии. Логическим продолжением работ по описанию периодического кроветворения и циклических колебаний в течение постоянного и после однократного цитотоксического воздействия стало распространение выявленных закономерностей на условия повторяющихся курсов химиотерапии с заданным интервалом. Эти исследования позволили выявить увеличение амплитуды осцилляций количества нейтрофилов при совпадении собственного периода гранулоцитопоза с интервалом между введениями цитотоксических препаратов. Максимальная степень нейтропении неожиданно оказалась соответствующей 3-недельному межкурсовому перерыву, а именно интервалу клас-

сических схем лечения гематологических опухолей, таких как СНОР-21 [23]. Таким образом, феномен резонанса, заимствованный из области волновой физики, может быть отнесен к биологическим процессам и находит отражение в медицине.

Нельзя сказать, что прямое распространение полученных *in silico* данных на реалии клинической практики правомочно, однако математический анализ дает возможность переосмыслить привычные концепции. Потенциал обоснования режимов химиотерапии на основании данных математического моделирования еще предстоит раскрыть. При этом изучение гранулоцитопоза и опосредованных цитотоксическим воздействием цитопений как побочного явления лечения — это только частная, несомненно важная, но не столь интригующая задача по сравнению с необходимостью разработки новых протоколов терапии, адаптированных к внутренним ритмам развития опухолевых клеток. К сожалению, вызывающие интерес работы по моделированию гемопоэза практически не распространяются на изучение лимфоидной линии дифференцировки.

Возвращаясь к математической модели гранулоцитопоза, необходимо отметить, что еще одним ее достижением может быть описание и прогнозирование эффектов ростовых факторов, о чем стоит поговорить подробнее, поскольку мы основывали дизайн нашего исследования, в частности, на сроках восстановления показателей гемограммы в условиях введения Г-КСФ.

Эффекты Г-КСФ

Г-КСФ — основной ростовой фактор пролиферации и созревания предшественников нейтрофилов. Практическое применение Г-КСФ относится преимущественно к терапии нейтропических состояний, в первую очередь вызванных химиотерапией. Кроме того, Г-КСФ является обязательным компонентом схем мобилизации аутоГСК для выполнения последующей трансплантации.

Биологические эффекты Г-КСФ хорошо изучены на клеточном уровне и в общих чертах заключаются в стимуляции пролиферации миелоидных предшественников, ингибировании их апоптоза и ускорении транзита созревающих нейтрофилов из костного мозга в циркуляцию. Согласно опубликованным данным исследований у здоровых добровольцев, терапия Г-КСФ в дозе 300 мкг в течение 5 дней приводит к экспансии гранулоцитарного митотического пула преимущественно за счет миелоцитов, в то время как расширения костномозговой фракции палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов не происходит, что может быть объяснено их быстрой миграцией в кровоток [24, 25]. Определение времени транзита из костного мозга в кровь на основании мониторинга радиоактивности меченного ^3H тимидина, включенного в ДНК на синтетической стадии митоза миелоидных предшественников, указывает на увеличение его скорости в среднем на 3–4 дня [24, 26]. Морфологические характеристики циркулирующих нейтрофилов, активированных Г-КСФ, соответствуют в большей степени незрелому фенотипу [27], что также согласуется со снижением их функциональной активности, определенной в тесте «кожного окна» [24] и косвенно подтверждает опосре-

дованный Г-КСФ выход в циркуляцию клеток, которые в иных условиях еще должны были завершать костномозговой этап дифференцировки. Подавление степени миграции нейтрофилов в периферические ткани может быть обусловлено недостаточной экспрессией молекул адгезии, что было продемонстрировано в некоторых работах [28, 29]. В то же время указанные различия фенотипа клеток в условиях терапии Г-КСФ не являются признаком дефицита противомикробного потенциала гранулоцитов, поскольку и исследования *in vitro*, и клиническая практика свидетельствуют об обратном [30, 31].

Функции Г-КСФ реализуются через специфические рецепторы, плотность которых на поверхности клетки увеличивается по мере ее созревания. Стволовые клетки и миелобласты практически лишены рецепторов Г-КСФ, в то время как зрелые нейтрофилы высокопозитивны по этому признаку [32]. На основании этих данных можно утверждать, что Г-КСФ оказывает влияние на условно последние этапы дифференцировки гранулоцитов, оставляя в стороне их ранние предшественники. Такой же вывод может быть сделан при внимательном изучении различий динамики количества лейкоцитов после химиотерапии при стимуляции Г-КСФ и без нее.

Согласно общепринятому мнению, введение Г-КСФ способствует уменьшению длительности и глубины агранулоцитоза. Этот факт неоспорим, однако для его правильного понимания необходимо внести некоторые пояснения. По данным метаанализа О.А. Clark и соавт., в котором были обобщены результаты наиболее полных работ за 1990–2000-е годы, продолжительность нейтропении в группе терапии Г-КСФ значительно отличалась от группы плацебо не менее чем на 1 день [33]. Подобные заключения были сделаны на основании рандомизированных исследований эффективности «лечебного» введения Г-КСФ у пациентов с фебрильной нейтропенией в отсроченный период после окончания химиотерапии [34–36]. При этом оценке подлежали не общая длительность агранулоцитоза и не точное время его начала и разрешения, а исключительно количество дней от начала стимуляции Г-КСФ до восстановления абсолютного числа нейтрофилов выше порогового уровня, равного $0,5 \times 10^9/\text{л}$. При подобном дизайне работы ответ на вопрос, приводит ли Г-КСФ к ускорению темпа дифференцировки миелоидных предшественников или эта видимость обусловлена исключительно скоростью достижения порога, невозможен.

В исследованиях другого рода проводился анализ эффективности профилактической терапии Г-КСФ непосредственно после окончания цитотоксического воздействия. Количество подобных работ невелико, и известно только два достаточно крупных отчета, к сожалению включавших лишь пациентов с раком легкого [37, 38]. Результаты этих исследований показали впечатляющую разницу в глубине и продолжительности нейтропении между контрольной и лечебной (основной) группой. Повторение рандомизации на новых когортах больных с другим диагнозом и другой терапией во всей последующей практике было признано неоправданным. Восполнить этот пробел мы не в состоянии, поскольку на настоящий момент прямое

сравнение профилактического введения Г-КСФ и его отсутствия на сопоставимых выборках пациентов невозможно по этическим принципам.

Возвращаясь к обсуждению работ V. Trillet-Lenoir и соавт. и J. Crawford и соавт., отметим, что задержка восстановления показателей периферической крови в условиях выбранного протокола не означает задержку активации гранулоцитопоэза. Несмотря на непрерывное профилактическое введение Г-КСФ с 4-го дня протокола, к 8-му дню формируется плато глубокой нейтропении, которая разрешается с различной скоростью в двух группах сравнения. Развитие лейкоцитоза в ответ на введение Г-КСФ к 12-му дню наблюдения отражает наличие в указанный срок клеточного субстрата для ростового фактора, готового к одномоментной активации пролиферативного потенциала. В группе плацебо этот потенциал остается нереализованным. Сроки до первых признаков нормализации количества лейкоцитов в приведенных исследованиях совпадают с теоретическими данными, о которых мы уже упоминали.

Таким образом, защитный эффект Г-КСФ может быть реализован в максимальной степени только при своевременном начале введения препарата в ранний срок после окончания химиотерапии, в среднем в течение первых 2 дней межкурсового перерыва. Именно в этот период в костном мозге пациента еще сохраняется поздний митотический пул гранулоцитов, который служит субстратом для Г-КСФ, что позволяет уменьшить длительность времени нейтропении за счет ее отсроченного развития после индуцированного гиперлейкоцитоза. Данные представленных исследований и подобная логика послужили основой для создания клинических рекомендаций по профилактике агранулоцитоза после цитостатического воздействия [39–41].

Нам не удалось найти в доступной литературе аналоги нашей работы по сравнительной характеристике динамики гранулоцитопоэза при различных схемах введения Г-КСФ. Особенностью проведенного нами исследования является ограничение влияния индуцированной Г-КСФ скорости восстановления количества лейкоцитов на фиксируемую продолжительность агранулоцитоза. Потенциал костномозгового кроветворения может быть равно реализован при двух вариантах начала терапии Г-КСФ при условии его достаточности к определенному моменту времени. Таким образом, наблюдаемая нами динамика в системе гранулоцитопоэза отражает только фундаментальные закономерности развития миелоидных предшественников после индуцированной химиотерапией миелосупрессии.

На наш взгляд, наибольший интерес представляет факт «фиксированного» времени разрешения агранулоцитоза независимо от режима введения Г-КСФ, который мы наблюдали у наших пациентов и которому уделено недостаточно внимания в литературе. Он согласуется с результатами одних авторов и противоречит результатам других, что, конечно, может быть обусловлено различиями протоколов исследований, в частности интенсивности курсов химиотерапии. Нам бы хотелось представить вероятный сценарий событий миелоцитопоэза в указанных условиях и объяснить причины отмеченного феномена независимости

момента активации самостоятельного гранулоцитопоза от применения Г-КСФ.

Цитотоксическое воздействие прерывает линейный ход дифференцировки миелоидного ростка. Более зрелые предшественники гранулоцитов, нечувствительные к химиотерапии, в течение нескольких дней после окончания цитотоксической иммунохимиотерапии продолжают созревать и мигрировать в кровотоки, поддерживая стабильное количество лейкоцитов. Эта сохраняющаяся популяция истощает себя к 7–8-му дню межкурсового перерыва, после чего развивается глубокая нейтропения, обусловленная «провалом» миелопоэза вследствие реализации цитотоксического эффекта, направленного на пул ранних предшественников. «Провал» продолжается до 10–11-го дня, когда в периферической крови появляются первые клетки нового поколения. Полное время созревания нейтрофила соответствует, по данным разных авторов, 10–12-му дню [42, 43] и полностью совпадает с наблюдаемыми сроками динамики лейкоцитов после цитотоксического воздействия. На долю постмитотического пула приходится примерно половина этого периода [26, 44]. Следовательно, можно предположить, что уже к 6–7-му дню перерыва в костном мозге существует популяция миелоидных клеток, чувствительных к стимуляции Г-КСФ. Почему введение Г-КСФ в период глубокой нейтропении не приводит к активации этих клеток, ускорению их дифференцировки и более раннему разрешению агранулоцитоза?

Эффект Г-КСФ является дозозависимым, что подтверждено многочисленными исследованиями [45–47]. Дозозависимость эффекта, обусловленного взаимодействием рецептора и лиганда, естественным образом подразумевает возможность его насыщения. При условии избытка лиганда, иными словами, при достижении терапевтической концентрации Г-КСФ эта возможность будет определяться исключительно плотностью доступных для связывания рецепторов. Мы уже приводили данные, согласно которым степень экспрессии рецепторов Г-КСФ невысока на ранних предшественниках. С учетом малой численности популяции самих клеток, только вступивших в цикл пролиферации после проведенной химиотерапии, общее количество рецепторов представляется ограниченным.

Рассматривая терапевтические эффекты Г-КСФ, мы ранее не упоминали о существовании базального уровня секреции эндогенного Г-КСФ и его собственного механизма регуляции, который подразумевает повышение продукции ростового фактора при развитии нейтропении, в частности, вследствие цитотоксической терапии, что было продемонстрировано Е. Shochat и соавт. [48]. Вполне возможно, что концентрация именно эндогенного Г-КСФ является насыщающей. В таком случае введение экзогенного фактора не имеет точки приложения и не может быть выражено в клинических признаках активации гранулоцитопоза. По мере увеличения количества доступных рецепторов при расширении популяции созревающих нейтрофилов происходит реализация эффекта избытка свободного лиганда, что объясняет развитие гиперлейкоцитоза на «выходе» из агранулоцитоза у пациентов, которым проводилась стимуляция Г-КСФ.

Приведенные теоретические соображения согласуются с практическим опытом и подтверждены результатами математического моделирования [49]. В стандартную модель гранулоцитопоза, которой уже было уделено достаточно внимания, авторы включили новый блок дифференциальных уравнений, отражающих фармакокинетику Г-КСФ при различных режимах введения, которые оказывают влияние на динамические процессы изменения ключевой функции количества лейкоцитов. Кроме того, в качестве дополнительного параметра модели исследователи использовали переменную величину BNF (basic neutrophil flux), отражающую угнетение продуктивной способности костного мозга после химиотерапии. По смыслу она эквивалентна рассмотренному нами пределу количества клеток и рецепторов Г-КСФ на их поверхности.

Анализируя особенности функции dN/dt при различных сочетаниях параметров математической модели, авторы доказали, что изменение режима введения Г-КСФ оказывает влияние только на степень нейтропении, позволяя в некоторых ситуациях предотвращать развитие агранулоцитоза, но при этом временные сроки активации самостоятельного гранулоцитопоза остаются постоянными. Кроме того, при низких значениях BNF, отражающих глубокое повреждение костномозгового кроветворения, увеличение концентрации Г-КСФ и поддержание ее в терапевтическом интервале неэффективны, поскольку не приводят к дополнительной стимуляции миелопоэза [49]. Таким образом, оправдывается гипотеза предельного насыщения эффекта Г-КСФ вследствие ограниченности костномозгового резерва и плотности свободных рецепторов ростового фактора на клетках гранулоцитарного ряда.

Роль Г-КСФ в формировании клеточного иммунитета

Возвращаясь к вопросу определения оптимальных сроков иммунной терапии на основании изучения динамики количества гранулоцитов, мы вынуждены признать, что на настоящий момент для его решения недостаточно данных. Существование механизмов взаимного контроля систем Т-клеточного иммунитета и миелопоэза неоднократно подтверждено в исследованиях *in vivo* и *in vitro*, однако полученные результаты носят противоречивый характер [50]. Единая теория этого взаимодействия до сих пор не разработана. Известно, что введение Г-КСФ стимулирует лимфоидные клетки и активированные моноциты к продукции интерферона- γ , основного эффекторного цитокина противовирусного ответа [51, 52]. С другой стороны, в ответ на интерферон- γ происходит активация нейтрофилов с экспрессией PD-L1 и они оказываются способными угнетать Т-лимфоциты [53]. Подавление Т-клеточного иммунитета после воздействия Г-КСФ также продемонстрировано в других работах [54]. В то же время стимуляция гранулоцитопоза сопровождается активацией функции антигенпрезентирующих дендритных клеток и NK-клеток, что в совокупности должно потенцировать клеточные противоопухолевый и противовирусный ответы [50].

Ингибиторы иммунных контрольных точек уже активно применяются в исследовательских прото-

колах лечения индолентных и агрессивных лимфом. Новые стратегии воздействия на опухоли системы крови, которые также опосредуют свой эффект через систему клеточного иммунитета, находятся на разных стадиях разработки и клинических испытаний. К ним относятся, например, терапия модифицированными аутологичными Т-клетками [55] или онколитическими вирусами [56, 57]. Направление онколитической терапии подразумевает применение в качестве агентов противоопухолевого воздействия непатогенных для человека вирусов, обладающих способностью инфицировать и избирательно лизировать клетки злокачественных новообразований [58].

Мы предполагаем, что интервал времени, предшествующий периоду секреции эндогенного Г-КСФ и последующей активации миелопоэза, будет благоприятствовать проведению терапии агентами иммунного воздействия по следующим причинам.

Во-первых, для реализации цитотоксического действия новых препаратов на опухолевые клетки необходим некий латентный период, определенный природой самого терапевтического агента. Активация и пролиферация модифицированных Т-клеток после контакта с мишенью, а также процесс инфицирования и репликации изученных онколитических вирусов в среднем занимают время, равное нескольким суткам. В течение этого периода наиболее выгодно сохранение иммунной системы организма в подавленном состоянии, которое требуется для успешной реализации противоопухолевого эффекта.

Во-вторых, достигнутый в результате терапии прямой цитолиз опухолевых клеток сопровождается появлением измененных антигенов, активирующих собственный иммунный ответ организма, что определяет вторую волну специфического воздействия на опухоль. В связи с этим в отсроченный период после введения противоопухолевых препаратов важна полноценная функциональность аутоиммунитета: NK-клеток, Т-лимфоцитов и системы антигенпрезентирующих дендритных клеток. С позиций динамики гранулоцитопоэза и опосредованных Г-КСФ иммунных эффектов этим условиям соответствуют первые дни после окончания цитотоксической иммунохимиотерапии.

Мы считаем необходимым отметить, что при разработке протоколов сочетания химиотерапии и иммунной терапии должны быть учтены перечисленные закономерности. В частности, эффекты влияния Г-КСФ на иммунные взаимодействия могут потребовать исключения ранней профилактики нейтропении ростовым фактором. Поддержка ингибиторами иммунных контрольных точек в момент разрешения агранулоцитоза может предупредить развитие иммуносупрессии при активации секреции эндогенного Г-КСФ или необходимости его лечебного введения по показаниям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании мы провели анализ динамики количества лейкоцитов после иммунохимиотерапии по программе R(G)-DHAP у пациентов с

неходжкинскими лимфомами. Согласно полученным данным, срок активации самостоятельного гранулоцитопоэза не зависит от стимуляции Г-КСФ и общей дозы ростового фактора и соответствует в среднем 10-му или 11-му дню перерыва после окончания курса химиотерапии. Эта особенность позволяет спланировать оптимальный режим профилактики Г-КСФ непосредственно после завершения цитотоксического воздействия. Уменьшение длительности нейтропении может быть достигнуто за счет ее отсроченного развития при реализации раннего гиперлейкоцитоза. Кроме того, наблюдаемый феномен отражает фундаментальные характеристики уровня взаимодействия Г-КСФ с субстратом костномозговых предшественников, а также хронологию гранулоцитопоэза как общего свойства кроветворения. Математическое моделирование динамики количества лейкоцитов при различных параметрах модельной системы раскрывает временные закономерности развития стволовой клетки и может служить ориентиром для практического изучения.

Внедрение методов иммунного воздействия в протоколы лечения онкогематологических пациентов требует прогнозирования реактивности организма на отдельных этапах течения заболевания. Это важно, чтобы определить благоприятный период проведения подобной терапии и спланировать оптимальные временные интервалы между химиотерапией и иммунной терапией, поскольку эффективность агентов иммунного воздействия напрямую зависит от реализации собственного противоопухолевого ответа. Программы на основе препаратов платины по типу R(G)-DHAP служат наиболее вероятной основой для комбинации с агентами иммунного воздействия у пациентов с неудачами химиотерапии первой линии. Мы предполагаем, что интервал времени, предшествующий периоду активации миелопоэза в первые дни межкурсового перерыва, наиболее оптимальный для инициации подобной терапии.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: С.К. Кравченко, К.А. Сычевская.
Сбор и обработка данных: К.А. Сычевская, Ф.Э. Бабаева, А.Е. Мисюрина.

Анализ и интерпретация данных: К.А. Сычевская, С.К. Кравченко.

Подготовка рукописи: К.А. Сычевская, С.К. Кравченко.

Окончательное одобрение рукописи: С.К. Кравченко, А.М. Кременецкая, [А.И. Воробьев](#).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Foley C, Mackey MC. Dynamic hematological disease: a review. *J Math Biol.* 2009;58(1–2):285–322. doi: 10.1007/s00285-008-0165-3.
2. Morley AA. A neutrophil cycle in healthy individuals. *Lancet.* 1966;2(7475):1220–2. doi: 10.1016/s0140-6736(66)92303-8.
3. Mackey MC, Glass L. Oscillation and chaos in physiological control systems. *Science.* 1977;197(4300):287–9. doi: 10.1126/science.267326.
4. Mackey MC. Cell kinetic status of haematopoietic stem cells. *Cell Prolif.* 2001;34(2):71–83. doi: 10.1046/j.1365-2184.2001.00195.x.
5. Pujo-Menjouet L, Mackey MC. Contribution to the study of periodic chronic myelogenous leukemia. *Compt Rend Biol.* 2004;327(3):235–44. doi: 10.1016/j.crv.2003.05.004.
6. Schirm S, Engel C, Loeffler M, Scholz M. Modelling chemotherapy effects on granulopoiesis. *BMC Syst Biol.* 2014;8(1):138. doi: 10.1186/s12918-014-0138-7.
7. Dale DC, Bolyard AA, Aprikan A. Cyclic neutropenia. *Semin Hematol.* 2002;39(2):89–94. doi: 10.1053/shem.2002.31917.
8. Levy EJ, Schetman D. Cyclic neutropenia. *Arch Dermatol.* 1961;84(3):429–33. doi: 10.1001/archderm.1961.01580150075012.
9. Colijn C, Mackey MC. A mathematical model of hematopoiesis: II. Cyclical neutropenia. *J Theor Biol.* 2005;237(2):133–46. doi: 10.1016/j.jtbi.2005.03.034.
10. Horwitz M, Benson KF, Person RE, et al. Mutations in ELA2, encoding neutrophil elastase, define a 21-day biological clock in cyclic haematopoiesis. *Nat Genet.* 1999;23(4):433–6. doi: 10.1038/70544.
11. Aprikan AA, Liles WC, Rodger E, et al. Impaired survival of bone marrow hematopoietic progenitor cells in cyclic neutropenia. *Blood.* 2001;97(1):147–53. doi: 10.1182/blood.v97i1.147.
12. Horwitz MS, Corey SJ, Grimes HL, Tidwell T. ELANE mutations in cyclic and severe congenital neutropenia: genetics and pathophysiology. *Hematol Oncol Clin N Am.* 2013;27(1):19–vii. doi: 10.1016/j.hoc.2012.10.004.
13. Welte K, Zeidler C, Dale DC. Severe congenital neutropenia. *Semin Hematol.* 2006;43(3):189–95. doi: 10.1053/j.seminhematol.2006.04.004.
14. Haurie C, Dale DC, Rudnicki R, Mackey MC. Modeling complex neutrophil dynamics in the grey collie. *J Theor Biol.* 2000;204(4):505–19. doi: 10.1006/jtbi.2000.2034.
15. Horwitz MS, Duan Z, Korkmaz B, et al. Neutrophil elastase in cyclic and severe congenital neutropenia. *Blood.* 2007;109(5):1817–24. doi: 10.1182/blood-2006-08-019166.
16. Go RS. Idiopathic cyclic thrombocytopenia. *Blood Rev.* 2005;19(1):53–9. doi: 10.1016/j.blre.2004.05.001.
17. Zhuge C, Mackey MC, Lei J. Origins of oscillation patterns in cyclical thrombocytopenia. *J Theor Biol.* 2019;462:432–45. doi: 10.1016/j.jtbi.2018.11.024.
18. Apostu R, Mackey MC. Understanding cyclical thrombocytopenia: a mathematical modeling approach. *J Theor Biol.* 2008;251(2):297–316. doi: 10.1016/j.jtbi.2007.11.029.
19. Colijn C, Mackey MC. A mathematical model of hematopoiesis—I. Periodic chronic myelogenous leukemia. *J Theor Biol.* 2005;237(2):117–32. doi: 10.1016/j.jtbi.2005.03.033.
20. Fortin P, Mackey MC. Periodic chronic myelogenous leukaemia: spectral analysis of blood cell counts and aetiological implications. *Br J Haematol.* 1999;104(2):336–45. doi: 10.1046/j.1365-2141.1999.01168.x.
21. Morley A, Stohlm F Jr. Cyclophosphamide-induced cyclical neutropenia. An animal model of a human periodic disease. *N Engl J Med.* 1970;282(12):643–6. doi: 10.1056/NEJM197003192821202.
22. Kennedy BJ. Cyclic leukocyte oscillations in chronic myelogenous leukemia during hydroxyurea therapy. *Blood.* 1970;35(6):751–60. doi: 10.1182/blood.v35i6.751.751.
23. Zhuge C, Lei J, Mackey MC. Neutrophil dynamics in response to chemotherapy and G-CSF. *J Theor Biol.* 2012;293:111–20. doi: 10.1016/j.jtbi.2011.10.017.
24. Price TH, Chatta GS, Dale DC. Effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on neutrophil kinetics in normal young and elderly humans. *Blood.* 1996;88(1):335–40. doi: 10.1182/blood.V88.1.335.335.
25. Chatta GS, Price TH, Allen RC, Dale DC. Effects of in vivo recombinant methionyl human granulocyte colony-stimulating factor on the neutrophil response and peripheral blood colony-forming cells in healthy young and elderly adult volunteers. *Blood.* 1994;84(9):2923–9. doi: 10.1182/blood.V84.9.2923.2923.
26. Dancy JT, Deubelbeiss KA, Harker LA, Finch CA. Neutrophil kinetics in man. *J Clin Invest.* 1976;58(3):705–15. doi: 10.1172/JCI108517.
27. Kerrigan DP, Castillo A, Foucar K, et al. Peripheral blood morphologic changes after high-dose antineoplastic chemotherapy and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration. *Am J Clin Pathol.* 1989;92(3):280–5. doi: 10.1093/ajcp/92.3.280.
28. Hakansson L, Hoglund M, Jonsson UB, et al. Effects of in vivo administration of G-CSF on neutrophil and eosinophil adhesion. *Br J Haematol.* 1997;98(3):603–11. doi: 10.1046/j.1365-2141.1997.2723093.x.
29. Ohsaka A, Saionji K, Sato N, et al. Granulocyte colony-stimulating factor down-regulates the surface expression of the human leucocyte adhesion molecule-1 on human neutrophils in vitro and in vivo. *Br J Haematol.* 1993;84(4):574–80. doi: 10.1111/j.1365-2141.1993.tb03130.x.
30. Mehta HM, Malandra M, Corey SJ. G-CSF and GM-CSF in Neutropenia. *J Immunol.* 2015;195(4):1341–9. doi: 10.4049/jimmunol.1500861.
31. Dale DC, Bonilla MA, Davis MW, et al. A randomized controlled phase III trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) for treatment of severe chronic neutropenia. *Blood.* 1993;81(10):2496–502. doi: 10.1182/blood.V81.10.2496.2496.
32. Shinjo K, Takeshita A, Ohnishi K, Ohno R. Granulocyte colony-stimulating factor receptor at various differentiation stages of normal and leukemic hematopoietic cells. *Leuk Lymphoma.* 1997;25(1–2):37–46. doi: 10.3109/10428199709042494.
33. Clark OA, Lyman GH, Castro AA, et al. Colony-stimulating factors for chemotherapy-induced febrile neutropenia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Oncol.* 2005;23(18):4198–214. doi: 10.1200/JCO.2005.05.645.
34. Garcia-Carbonero R, Mayordomo JI, Tornamira MV, et al. Granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of high-risk febrile neutropenia: a multicenter randomized trial. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(1):31–8. doi: 10.1093/jnci/93.1.31.
35. Maher DW, Lieschke GJ, Green M, et al. Filgrastim in patients with chemotherapy-induced febrile neutropenia. A double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 1994;121(7):492–501. doi: 10.7326/0003-4819-121-7-199410010-00004.
36. Mitchell PL, Morland B, Stevens MC, et al. Granulocyte colony-stimulating factor in established febrile neutropenia: a randomized study of pediatric patients. *J Clin Oncol.* 1997;15(3):1163–70. doi: 10.1200/JCO.1997.15.3.1163.
37. Trillet-Lenoir V, Green J, Manegold C, et al. Recombinant granulocyte colony stimulating factor reduces the infectious complications of cytotoxic chemotherapy. *Eur J Cancer.* 1993;29A(3):319–24. doi: 10.1016/0959-8049(93)90376-q.
38. Crawford J, Ozer H, Stoller R, et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 1991;325(3):164–70. doi: 10.1056/NEJM199107183250305.
39. Crawford J, Becker PS, Armitage JO, et al. Myeloid Growth Factors, Version 2.2017. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15(12):1520–41. doi: 10.6004/jnccn.2017.0175.
40. Apro MS, Bohlius J, Cameron DA, et al. 2010 update of EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphoproliferative disorders and solid tumours. *Eur J Cancer.* 2011;47(1):8–32. doi: 10.1016/j.ejca.2010.10.013.
41. Crawford J, Caserta C, Roila F, ESMO Guidelines Working Group. Hematopoietic growth factors: ESMO Clinical Practice Guidelines for the applications. *Ann Oncol.* 2010;21(Suppl 5):v248–v251. doi: 10.1093/annonc/mdq195.
42. Lawrence SM, Corriden R, Nizet V. The Ontogeny of a Neutrophil: Mechanisms of Granulopoiesis and Homeostasis. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2018;82(1):e00057–17. doi: 10.1128/MMBR.00057-17.
43. Murphy P. *The Neutrophil.* Boston: Springer; 1976. pp. 33–67.
44. Lord BI, Bronchud MH, Owens S, et al. The kinetics of human granulopoiesis following treatment with granulocyte colony-stimulating factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86(23):9499–503. doi: 10.1073/pnas.86.23.9499.
45. Lie AK, Hui CH, Rawling T, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) dose-dependent efficacy in peripheral blood stem cell mobilization in patients who had failed initial mobilization with chemotherapy and G-CSF. *Bone Marrow Transplant.* 1998;22(9):853–7. doi: 10.1038/sj.bmt.1701463.
46. van Der Auwera P, Platzer E, Xu ZX, et al. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of single doses of subcutaneous pegylated human G-CSF mutant (Ro 25-8315) in healthy volunteers: comparison with single and multiple daily doses of filgrastim. *Am J Hematol.* 2001;66(4):245–51. doi: 10.1002/ajh.1052.
47. Morstyn G, Campbell L, Souza LM, et al. Effect of granulocyte colony stimulating factor on neutropenia induced by cytotoxic chemotherapy. *Lancet.* 1988;1(8587):667–72. doi: 10.1016/s0140-6736(88)91475-4.
48. Shochat E, Rom-Kedar V, Segel LA. G-CSF control of neutrophils dynamics in the blood. *Bull Math Biol.* 2007;69(7):2299–338. doi: 10.1007/s11538-007-9221-1.
49. Shochat E, Rom-Kedar V. Novel strategies for granulocyte colony-stimulating factor treatment of severe prolonged neutropenia suggested by mathematical modeling. *Clin Cancer Res.* 2008;14(20):6354–63. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0807.
50. Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol.* 2014;9(1):181–218. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
51. Hayes MP, Enterline JC, Gerrard TL, Zoon KC. Regulation of interferon production by human monocytes: requirements for priming for lipopolysaccharide-induced production. *J Leuk Biol.* 1991;50(2):176–81. doi: 10.1002/jlb.50.2.176.
52. Boneberg EM, Hareng L, Gantner F, et al. Human monocytes express functional receptors for granulocyte colony-stimulating factor that mediate suppression of monokines and interferon- γ . *Blood.* 2000;95(1):270–6. doi: 10.1182/blood.V95.1.270.
53. de Kleijn S, Langereis JD, Leentjens J, et al. IFN- γ -stimulated neutrophils suppress lymphocyte proliferation through expression of PD-L1. *PLoS One.* 2013;8(8):e72249. doi: 10.1371/journal.pone.0072249.
54. Rutella S, Zavala F, Danese S, et al. Granulocyte colony-stimulating factor: a novel mediator of T cell tolerance. *J Immunol.* 2005;175(11):7085–91. doi: 10.4049/jimmunol.175.11.7085.
55. Ali N. Chimeric antigen T cell receptor treatment in hematological malignancies. *Blood Res.* 2019;54(2):81–3. doi: 10.5045/br.2019.54.2.81.
56. Bais S, Barteel E, Rahman MM, et al. Oncolytic virotherapy for hematological malignancies. *Adv Virol.* 2012;2012:1–8. doi: 10.1155/2012/186512.
57. Calton CM, Kelly KR, Anwer F, et al. Oncolytic Viruses for Multiple Myeloma Therapy. *Cancers (Basel).* 2018;10(6):198. doi: 10.3390/cancers10060198.
58. Matveeva OV, Chumakov PM. Defects in interferon pathways as potential biomarkers of sensitivity to oncolytic viruses. *Rev Med Virol.* 2018;28(6):e2008. doi: 10.1002/rmv.2008.