původní práce

POUŽITÍ PROGENITOROVÝCH BUNĚK Z PERIFERNÍ KRVE K PODPOŘE INTENZIVNÍ CYKLICKÉ CHEMOTERAPIE U POKROČILÉHO KARCINOMU PRSU

THE USE OF WHOLE BLOOD RICH IN PBPC IN THE HAEMATOPOIETIC SUPPORT OF INTENSIVE CYCLIC CHEMOTHERAPY USED IN ADVANCED BREAST CANCER

MEDKOVÁ V.[1], FILIP S.[1], VAŇÁSEK J.[1], BLÁHA M.[2], MĚŘIČKA P.[3], STRÁNSKÝ P.[4]

[1]KLINIKA ONKOLOGIE A RADIOTERAPIE FN HRADEC KRÁLOVÉ
[2]ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE FN HRADEC KRÁLOVÉ
[3]TKÁŇOVÁ ÚSTŘEDNA FN HRADEC KRÁLOVÉ
[4]KATEDRA BIOFYZIKY LÉKAŘSKÉ FAKULTY UK HRADEC KRÁLOVÉ

Souhrn: Přežití nemocných s pokročilým karcinomem prsu zůstává přes pokroky dosažené konvenční chemoterapií špatné. Intenzivní cyklická chemoterapie je jednou z možných cest k zlepšení terapeutické efektivity. Toxicita této léčby však vyžaduje další hledání optimální podpory reparace krvetvorby. V naší studii jsme hodnotili efektivitu podávání plné krve bohaté na PBPC a koncentrátů progenitorových buněk krvetvorby získaných pomocí leukaferézy. Bylo léčeno 29 žen s pokročilým karcinomem prsu, s průměrným věkem 46 let (rozmezí 26-58). Absolvovaly 6 cyklů chemoterapie (epirubicin 150 mg/m^2 a cyklofosfamid 1250 mg/m^2) podaných ve čtrnáctidenních intervalech. V prvém cyklu jsme podávali G-CSF k mobilizaci PBPC (peripheral blood progenitor cell). Leukaferézy byly prováděny ve dnech 11, 12 a 13. Progenitorové buňky jsme po kryokonzervaci rozdělili na tři díly a podali po čtvrtém, pátém a šestém cyklu chemoterapie. Mobilizovaná plná krev byla odebrána ve dni l4 v prvém a druhém cyklu, uchována při 4 °C a aplikována za 48 hodin, t.j. 24 hodin po podání cytostatik. K leukopenii IV. stupně došlo v 72 % cyklů s podporou plnou krví a ve 49 % s podporou PBPC získaných leukaferézou. K trombocytopenii IV. stupně došlo u 29 % cyklů s podporou plnou krví a ve 12 % s podporou PBPC získaných leukaferézou. Po léčbě došlo k statisticky významnému snížení ejekční frakce levé komory, které přetrvávalo ještě po 3 měsících od terapie. Před léčbou byla průměrná hodnota 56 % (SD = 5,2) a po léčbě 52,1% (SD = 5,1). U žádné nemocné nedošlo ke klinickým projevům srdeční nedostatečnosti. Byla potvrzena dobrá efektivita i snášenlivost použité léčby. Je však třeba dále zlepšovat účinnost podpory hematopoezy plnou krví bohatou na PBPC.

Klíčová slova: karcinom prsu, cyklická intenzivní chemoterapie, růstové faktory, plná krev bohatá na PBPC.

Summary: The survival of patients with advanced breast cancer remains poor in spite of the progress achieved by conventional chemotherapy. One of the possible ways to improve the therapeutic effectiveness is intensive cyclic chemotherapy. The toxicity of this treatment modality needs further investigation for optimal hematopoietic support. In our study, we evaluated the effectiveness of administration of whole blood rich in peripheral blood progenitor cells (PBPC) and cryopreserved PBPC harvested by leucapheresis. 29 women with advanced breast cancer were treated, average age 46 years (range 26-58). Six cycles of chemotherapy (epirubicin 150 mg/m^2 and cyclophosphamide 1250 mg/m^2 administered in 14 days intervals) were given. G-CSF for the attenuation of neutropenia and mobilisation of PBPC was used. Leucaphereses were practiced on days 11, 12 and 13. Harvested cells were divided after cryoconservation into three parts and were administered after 48 hours, 24 hours after application of cytostatics. Grade IV leukopenia was found in 72% of the whole blood support group and in 49% in the group in which PBPC was obtained by leucapheresis. Grade IV thrombocytopenia was found in 29% of cycles, in the whole blood support group and 12% with the support of PBPC obtained by leucapheresis. The disease free interval in two years is 70%. There was a statistically significant decrease of the ejection fraction of the left ventricle after treatment. This finding persisted in control examination three months after therapy. There was an average value of 56% (SD 5,2) before treatment and 52,1% (SD 5,1) after treatment. We observed no clinical symptoms of heart failure. Good tolerance of the treatment was confirmed. However, there is a need to attain the same effectiveness by the administration of whole blood as the administration of PBPC obtained by leucapheresis. Therefore, we are looking for better methods of mobilization and harvest.

Key words: breast cancer, cyclic intensive chemotherapy, growth factors, blood rich in PBPC

ÚVOD

Lokálně pokročilý nebo diseminovaný karcinom prsu zůstává závažným problémem pro dosud špatnou prognózu tohoto onemocnění. Samostatná radioterapie nebo operační léčba dosahuje jen malého počtu lokálních kontrol. U pokročilého primárního tumoru vzniká u 45% pacientek relaps do 18 měsíců, u inflamatorního ve 48% do 12 měsíců. Také přežití je špatné (medián menší než 3 roky u lokálně pokročilého a méně než 12 měsíců u inflamatorního) (1).

Zařazení systémové léčby (chemoterapie a hormonální terapie) zlepšilo prognózu ve srovnání se samotnou aktinoterapií a prodloužilo délku přežití, takže medián se pohybuje mezi 2-6 lety (2).

Přesto je při použití konvenční cytostatické léčby prognóza onemocnění špatná a hledají se možnosti jak výsledky léčby zlepšit. Jednou z cest je použití vyššího dávkování cytostatik. Z laboratorních prací je již dlouhou dobu prokázána závislost protinádorového účinku na dávce cytostatik. Teprve v sou-

časné době se daří prokázat význam vyšší dávkové intenzity v léčbě karcinomu prsu i v klinické praxi (3,4).
Zdůvodněním snahy zvýšit intenzitu léčby zkrácením intervalů mezi kúrami je Nortonův model, který předpokládá akcelerovanou repopulaci nádorových buněk mezi cykly léčby (7).
Stále častěji se v klinické praxi využívá vysokodávkovaná chemoterapie s podpůrnou léčbou pomocí autologních progenitorových buněk získaných z kostní dřeně nebo z periferní krve (PBPC) (5). Podání PBPC umožňuje zvýšení dávkové intenzity chemoterapie jak při jednorázové, tak cyklické intenzivní chemoterapii (6).
Řada autorů poukazuje na to, že při podpůrné léčbě v průběhu vysokodávkované chemoterapie lze s úspěchem místo obvykle používaných kryokonzervovaných buněk získaných leukaferézou podat autologní plnou krev obohacenou o PBPC (8,9,10). Podstatou metody je odběr plné krve a uskladnění při teplotě 4^0 C po dobu 24-72 hodin. Tento postup redukuje cenu odběru PBPC (klasickým způsobem jsou PBPC odebírány na separátoru) a získaný koncentrát není nutno kryokonzervovat a proto není potřebné použít kryoprotektiva, která mohou být ve vyšších dávkách toxická (8, 10, 11). Problémem této metody je však dosažení takových výtěžků PBPC, které významně ovlivní reparaci krvetvorby. Zdokonalení techniky mobilizace PBPC pokročilo a v současné době jsme dosáhli zvýšení počtu CFU-GM a CD34+ buněk v periferní krvi na více než padesátinásobek normální klidové hodnoty (12). U některých pacientů lze docílit takového vzestupu PBPC v periferní krvi, že jejich počet ve 450-1000 ml krve odpovídá potřebné transplantační dávce (13). Optimální kombinace cytostatik a růstových faktorů však dosud nebyla určena (14,15).
V situaci, kdy jsou používány vyšší dávky cytostatik, než jsou konvenční, začíná se více projevovat vliv nehematologické, orgánové toxicity. Při použití vysokých dávek antracyklinů vzniká především riziko poškození srdce. Zatím je však k dispozici jen málo údajů o kardiotoxicitě intenzivní chemoterapie podporované PBPC (16). Předpokládáme, že v takovém režimu může hrát úlohu i toxicita dimethylsulfoxidu (DMSO), případně rozpadových produktů buněk.
Cílem našeho projektu bylo srovnání účinnosti plné krve oproti kryokonzervovaným PBPC získaným leukaferézou k podpoře reparace krvetvorby při intenzivní cyklické chemoterapii. Dále zhodnocení léčebné účinnosti a toxicity kombinace epirubicin + cyklofosfamid podávané ve čtrnáctidenních intervalech u nemocných s pokročilým karcinomem prsu.

SOUBOR NEMOCNÝCH A METODIKA:

Do studie bylo zařazeno 29 žen s karcinomem prsu podle následujících kriterií:
- věk pod 60 let
- ženy po mastektomii s více než 10 pozitivními axilárními uzlinami
- ženy po mastektomii s 5 a více pozitivními axilárními uzlinami a negativními estrogenovými receptory v maligních buňkách
- ženy s metastatickou chorobou bez postižení mozku, kostní dřeně a bez předchozí chemoterapie
- ženy s lokálně pokročilým karcinomem prsu včetně inflamatorního karcinomu.
- normální funkce srdeční (hodnoceno klinickým vyšetřením, vyšetřením ejekční frakce levé komory scintigrafií a EKG), jaterní, ledvinné funkce, normální krevní obraz.
- stav nemocných podle klasifikace WHO 0 nebo 1.
- kontraindikacemi byly gravidita, jiné maligní onemocnění, závažná psychiatrická onemocnění
- u všech nemocných byl získán písemný informovaný souhlas s prováděnou léčbou.

Podle rozdělení do TNM klasifikace je 23 nemocných ve stádiu III a 6 ve stádiu IV. Průměrný věk nemocných byl 46 let v rozmezí 26-58. Po chirurgickém výkonu (modifikovaná radikální mastectomie) bylo 15 pacientek. Rozdělení nemocných podle indikací je uvedeno v tabulce č. 1.

Chemoterapeutický režim

Všechny nemocné dostaly šest cyklů chemoterapie v kombinaci epirubicin 150 mg/m^2 a cyklofosfamid 1250 mg/m^2 ve dni 1 (EC). V prvém cyklu za 24 hodin po chemoterapii EC bylo zahájeno podávání G-CSF (Amgen Roche) v dávce 5-10 (μg/kg/den s.c. až do doby ukončení odběrů na separátoru a plné krve. V ostatních cyklech byl G-CSF podáván od sedmého dne po chemoterapii. Ve dnech 11, 12 a 13 po prvém cyklu byly prováděny leukaferézy. Progenitorové buňky získané leukaferézami byly rozděleny do několika vaků, kryokonzervovány, rozděleny na tři přibližně shodné díly a podávány nemocným po čtvrtém, pátém a šestém cyklu chemoterapie.
Plná krev bohatá na PBPC byla odebírána ve dni 14 v prvém a druhém cyklu. Mobilizovanou plnou krev jsme reinfundovali vždy za 24 hodin po podání cytostatik, tj. 48 hodin po odběru.

Metodika odběru PBPC

Leukaferézy jsme prováděli v průběhu podávání G-CSF pomocí automatického separátoru COBE Spectra (Lakewood, Co, USA) s následujícími parametry: 10 000-12 000 ml krve při jedné separaci, průtok 60-70 ml/min. PBPC byly kryokonzervovány s dimetylsulfoxidem (DMSO) v stabilizačním roztoku obsahujícím dextran, sacharosu, dextrosu a antikoagulans. Lidský sérový albumin je přidáván do finální koncentrace 1%. Produkt je zmrazován v programovatelném přístroji Kryo-10 (Planer Biomed, Sunbury on Thames, UK) s kontrolovanou rychlostí zmrazování (-1 °C/min do -90 °C, -5 °C/min do -150 °C). PBPC byly skladovány v tekutém dusíku při -196 °C. Rozmrazování jsme prováděli ve vodní lázni při 37 °C a suspenze byla přímo aplikována z vaku do centrálního venozního katetru bez odstranění kryoprotektiva.

Metodika odběru plné krve bohaté na PBPC

Plná krev byla odebrána 14. den do standardních vaků pro odběry krve (Japan Medical Supply, Singapore) obsahujících 50 ml CPDA roztoku jako antikoagulans. Celkový objem odebrané krve byl 450 ml. Vaky byly uloženy v chladničce v Tkáňové bance při 4 °C po dva dny a aplikovány po dalším cyklu chemoterapie.

Průtoková cytometrie a stanovení koloniformních jednotek

Mononukleáry s expresí CD34+ povrchových membránových antigenů byly kvantifikovány průtokovou cytometrií s použitím Con IgG ±FITC protilátky a CD34 + FITC-konjugované 8G12 protilátky (HPCA-2 FITC, Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA). Analýza byla provedena s použitím FACScanneru (Becton Dickinson) po lýze erytrocytů. Minimální počet testovaných buněk byl 10 000.
Počet hematopoetických progenitorových buněk byl stanoven pomocí kultivace CFU-GM. Izolované purifikované mononukleáry byly inokulovány v koncentraci 2x10^5/ml. Bylo použito 20% Iscovem modifikované Dubelccovo médium suplementované 10% bovinním sérovým albuminem, 20% fetálním telecím sérem, 100 μg 3% glutaminu, 100 μg penicilinu + streptomycinu, 135 l 7,5% $NaHCO_3$, 10 ng/ml rekombinantního GM-CSF a 0,9% metylcelulosy. Roztok v množství 1 ml byl aplikován na Petriho misky o průměru 35 mm a inkubován po

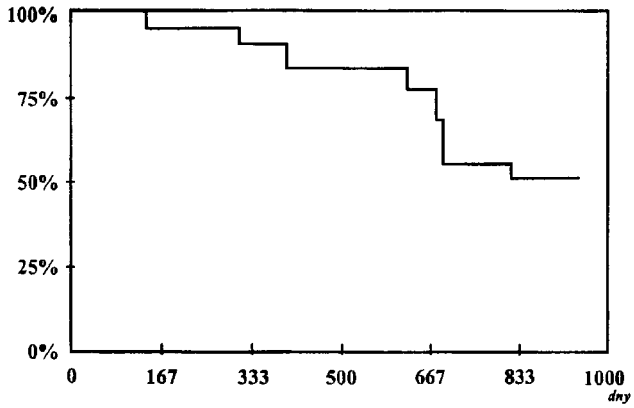
Tab. č. 1
Rozdělení nemocných podle indikací

více než 10 axilárních uzlin	12
více než 5 axilárních uzlin (negat. receptory)	3
diseminace onemocnění	6
inoperabilní tumor	8

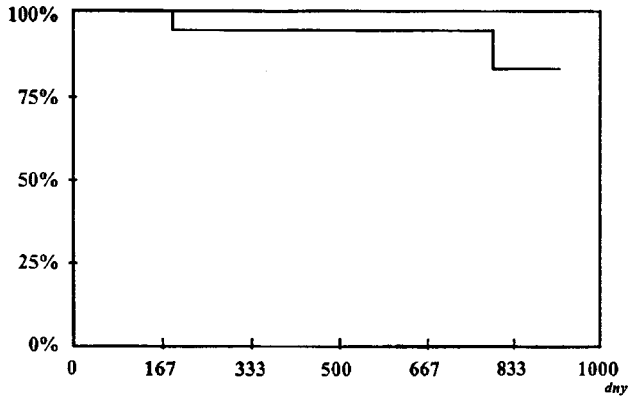
Tab. č. 2.
Stupeň leukopenie a trombocytopenie

leukopenie	plná krev	PBPC ze separátoru
III. stupeň	28 %	51 %
IV. stupeň	72 %	49 %
trombopenie		
III. stupeň	21 %	12 %
IV. stupeň	29 %	11 %

Graf č. 1.
Přežití bez známek choroby



Graf č. 2.
Celkové přežití



14 dní při 37 ^{0}C v atmosféře s 5% CO_2 a 100% vlhkosti. Jako kolonie byly počítány agregáty více než 40 buněk pomocí inverzního mikroskopu Olympus OSP-2.

Vyšetření ejekční frakce levé komory srdeční
Vyšetření bylo provedeno před aplikací chemoterapie, po třetím a šestém cyklu a s odstupem 3 měsíců po ukončení terapie. K vyšetření byla použita gamakamera Apex SPX Helix (Elscint, Israel) s kolimátorem HPC 35 v modifikované levé šikmé projekci s bočným sklonem detektoru 40° a se sklonem kraniokaudálním 10° (MALO projekce). Před vyšetřením jsme blokovali akumulaci volného pertechnátu ve štítné žláze aplikací chlorigenu. Nemocným byl nitrožilně aplikován Sn-pyrofosfát v dávce 15 μg. Za 20 minut následovala nitrožilní aplikace 800 Mbq ^{99}Tc, změna objemu krve v srdečních komorách byla zaznamenána v průběhu 600 srdečních cyklů.
Statistické zhodnocení výsledků jsme provedli pomocí párového T-testu statistickým programem SOLO.

VÝSLEDKY:

Výtěžky PBPC:
Odběry PBPC jsme zahajovali, jakmile došlo k výraznému vzestupu leukocytů, obvykle ve dni 11 cyklu. Počet leukaferéz byl 3 nebo 4 a maximálních výtěžků jsme dosahovali ve dni 13., kdy došlo v průměru k padesátinásobného zvýšení CFU-GM v periferní krvi oproti vstupním hodnotám. Průměrný výtěžek CD34+ buněk na jednu leukaferézu byl 2,6x10^6/kg (rozmezí 0,36-10,54) a průměrný počet CFU-GM dosáhl 1,8x10^5/kg (rozmezí 0,89-4,20).
Plná krev bohatá na PBPC byla odebírána ve dni 14 s průměrným výtěžkem CD 34+ buněk 1,8x10^6/kg (rozmezí 0,18-2,66) a výtěžek CFU-GM byl 0,9x10^5/kg (rozmezí 0,05-1,72).

Reparace hematopoezy:
Stupně leukopenie a trombocytopenie u cyklů chemoterapie s podporou plnou krví oproti podpoře kryokonzervovanými PBPC jsou uvedeny v tabulce č.2. Z tabulky vyplývá, že ve skupině s plnou krví byl výskyt leukopenie IV. stupně 1,82 krát vyšší a trombocytopenie IV. stupně dokonce 2,64 krát vyšší než u cyklů s podporou kryokonzervovanými PBPC. To odpovídá skutečnosti, že počet podaných CD34+ buněk a CFU-GM při jedné aplikaci byl v kryokonzervátech téměř dvojnásobný. Při léčbě plnou krví připadlo na jeden cyklus 0,9 transfuze, při léčbě PBPC ze separátoru 0,74 transfuze.

Terapeutická odpověď:
Chemoterapie byla podána 14 nemocným s měřitelnou chorobou. V této skupině došlo k úplnému vymizení nálezu nebo regresi o více než 3/4 u 71% a regresi méně než 3/4 a více než 1/2 u 29%. U jedné pacientky, kde byla chemoterapie podána adjuvantně, došlo v průběhu léčby k progresi jaterních metastáz. Z celého souboru nemocných došlo k relapsu onemocnění u 7 žen. Přežití bez známek choroby ve 2 letech je 70%, křivka přežití bez známek choroby je na obr. č. 1. Celkové přežití nemocných v souboru je na obr. č. 2.

Komplikace léčby:
- infekční a hematologické
Závažné infekční komplikace jsme pozorovali u tří nemocných. Jednou šlo o mykotickou sepsi vyvolanou Candidou tropicalis, ve dvou případech o bakteriální sepsi, jejímž zdrojem byl portkatetr.
Nepozorovali jsme dosud vznik pozdních hematologických následků typu myelodysplastického syndromu nebo akutní leukémie.
- kardiologické
V průběhu cytostatické léčby vznikly u 4 pacientek arytmie (časově omezený výskyt polytopních komorových extrasystol) a u jedné perikardiální výpotek bez nutnosti punkce. Tyto změny byly reverzibilní. Průměrná hodnota ejekční frakce levé komory srdeční před léčbou byla 56% (SD 5.2) po 3. cyklu byla 55.3% (SD 7.3), po šestém 52.1% (SD 5.1) a po 3 měsících od léčby 52.5% (SD 6.4). Statisticky významný rozdíl hodnocený párovým T-testem byl mezi vstupní hodnotou EF a kontrolou po šestém cyklu ($p = 0,0026$), vstupní hodnotou a kontrolou po 3 měsících od léčby ($p = 0,042$) i mezi kontrolou po 3. a 6. cyklu ($p = 0,014$). Rozdíly ejekčních frakcí mezi vstupní hodnotou a kontrolou po 3. cyklu a mezi šestým cyklem a kontrolou po 3 měsících nebyly statisticky významné. U žádné nemocné jsme nepozorovali klinické projevy srdeční nedostatečnosti.
- další komplikace
U všech pacientek vznikla úplná alopecie, mírná mukozitida (1-2 stupně podle klasifikace WHO) a nauzea. U více než poloviny cyklů došlo ke zvracení, bylo však zvládnutelné ondasetronem a netrvalo déle než 24 hodin. V průběhu léčby nedošlo k úmrtí spojenému s cytostatickou terapií.

DISKUSE

Cílem naší studie bylo zjistit vhodnost podpory krvetvorby pomocí kombinace autologní plné krve bohaté na PBPC a G-CSF v průběhu intenzivní cyklické chemoterapie prováděné kombinací epirubicin a cyklofosfamid.

Koncepce cyklické intenzivní chemoterapie vychází z toho, že jedna kúra chemoterapie většinou není ani při vysoké účinnosti dostatečně efektivní k eradikaci maligního onemocnění, a to ani u velmi senzitivních tumorů (17). U konvenční chemoterapie je více cyklů účinnějších než jeden, takže cyklická terapie je při konvenčním dávkování standardním postupem a je u chemosenzitivních malignit potenciálně kurativní i v případě některých diseminovaných nádorových onemocnění (18).

V adjuvantním podání pak lze docílit zlepšení přežití i u méně senzitivních nádorů jako jsou i tumory prsu (19). Je proto možné předpokládat, že více cyklů intenzivní chemoterapie bude účinnější než jeden, respektivně intenzivní cyklická chemoterapie může být účinnější než konvenční.

Intenzivní chemoterapeutické režimy testované v léčbě karcinomu prsu obvykle obsahují antracykliny a cyklofosfamid, protože vysoká účinnost těchto cytostatik je ověřena.

V prospektivní randomizované studii byla prokázána závislost efektu na dávce a dávkové intenzitě při konvenční chemoterapii. Dále bylo prokázáno, že při ekvimolární koncentraci má epirubicin stejnou účinnost a nižší toxicitu než doxorubicin a je tedy vhodným cytostatikem pro intenzivní režimy (20,21). Proto proběhla řada studií testujících účinnost kombinace epirubicin + cyklofosfamid s podporou růstovým faktory nebo PBPC. Byl prokázán vysoký počet odpovědí, není však jasné, zda takto pojatá léčba zlepšuje dlouhodobé přežití (22,23,24). Účinnost této kombinace byla zjištěna i v našem souboru, kde odpověděly na léčbu všechny nemocné s měřitelnou chorobou a k progresi v průběhu terapie došlo v jediném případě.

Podpora hematopoezy v průběhu intenzivní cytostatické léčby může být prováděna pomocí růstových faktorů nebo podáním progenitorových buněk z kostní dřeně nebo periferní krve. Hansen a spol. prokázali v prospektivní randomizované studii signifikantní zkrácení neutropenie pomocí aplikace GM-CSF po chemoterapii kombinací epirubicin (130 mg/m^2) a cyklofosfamid (2,5 g/m^2) ve 28 denních intervalech (22). Použití G-CSF testovali Takashima a spol. a prokázali zkrácení neutropenie po chemoterapii kombinací epirubicin (130 mg/m^2) + cyklofosfamid (1000 mg/m^2) podávané ve třítýdenních intervalech (23).

Výsledky řady studií potvrzují možnost dosáhnout pomocí aplikace PBPC dalšího zvýšení dávek cytostatik, respektive zkrácení intervalů mezi cykly (24).

Podání kryokonzervovaných PBPC získaných pomocí leukaferéz však s sebou přináší další náklady a riziko toxicity spojené s opakovaným podáním kryoprotektiv. Použití plné krve bohaté na PBPC po mobilizaci růstovými faktory je jednou z perspektivních možností, jak snížit cenu i toxicitu intenzivní cyklické chemoterapie. Petengellová a spol. prokázali stejnou efektivitu tohoto postupu, jakou má podání produktů získaných leukaferézou za použití kombinace ifosfamid, karboplatina, etoposid + G-CSF. Na druhé straně však existují práce, které při srovnání podpory hematopoezy plnou krví nebo G-CSF neprokazují významný rozdíl (25).

Důvodem může být řada problémů, které jsou s použitím plné krve bohaté na PBPC spojené. Především není znám minimální počet CFU-GM/kg tělesné hmotnosti potřebný pro zkrácení období leukopenie při použití nemyeloablativní chemoterapie. Při podpoře reparace krvetvorby pomocí PBPC získaných leukaferezou je obvykle podáváno množství CD 34+ buněk respektive CFU-GM, které přesahuje hranici potřebnou i pro myeloablativní chemoterapii (24). Při použití plné krve jsme v řadě případů získali jen relativně malé množství progenitorů a reparace krvetvorby byla v průměru ve srovnání s cykly s podporou PBPC získanými leukaferezou horší. Proč při některých cyklech byly výtěžky menší je obtížné jednoznačně stanovit. Rozdíly v reparaci krvetvorby po chemoterapii mohou být ovlivněny integritou mikroprostředí kostní dřeně, endogenní produkcí cytokinů a případně dalšími vlivy (26,27). V experimentu byly zjištěny až desetinásobné rozdíly odpovědi na GM-CSF u syngenních myší (28). U nemocných s karcinomem prsu s normocelulární kostní dření je popsán dvanáctinásobný rozdíl výtěžků leukaferez mezi nemocnými (24).

Jednou z nezodpovězených otázek při mobilizaci je vliv předchozího podání růstového faktoru na proliferační aktivitu progenitorů v kostní dřeni nemocného a tím zvýšení toxicity následujícího cyklu chemoterapie. Danova a spol. stejně jako De Wit zjistili vyšší riziko poškození kostní dřeně po podání cytostatik v krátkém odstupu několika dní od ukončení aplikace G-CSF (29,30).

Při intenzivní chemoterapii stoupá význam nehematologické toxicity. S podáváním antracyklinů je spojeno především riziko kardiotoxicity. V našem souboru jsme zjistili signifikantní snížení ejekční frakce levé komory v průběhu cyklické chemoterapie, u žádné nemocné však nedošlo ke klinickým projevům srdečního selhávání. Toto pozorování je ve shodě s literárními údaji (31). Srdeční selhání se sice může objevit i po několika letech, avšak obvykle vzniká v průběhu terapie nebo za 4-8 týdnů po jejím ukončení. Nepředpokládáme proto, že by se v budoucnu objevilo další významné zhoršení funkce myokardu. Je pravděpodobné, že kardioxicita závisí především na kumulativní dávce cytostatik a je málo závislá na množství léku při jednotlivé aplikaci (32).

Intenzivní cyklická chemoterapie s podporou plné krve bohaté na PBPC je i přes některé obtíže nadějnou možností, jak docílit zvýšení účinnosti chemoterapie při minimální toxicitě a ceně. Největším problémem jsou rozdílné a někdy i nízké výtěžky, které mohou být málo účinné pro rychlou reparaci krvetvorby. Řešení předpokládáme nalézt v odběru většího množství plné krve, které provádějí jiní autoři (9).

Zlepšení výsledků odběrů PBPC a zvýšení protinádorového účinku léčby je v současnosti hledáno testováním kombinací růstových faktorů a cytostatik vysoce efektivních v protinádorové léčbě, jako jsou paclitaxel, antracykliny a etoposid (13).

ZÁVĚR

Intenzivní cyklická chemoterapie v léčbě karcinomu prsu je jednou ze slibných možností, jak dosáhnout zvýšení terapeutické účinnosti. Výsledky studie potvrdily údaje o možnosti dosáhnout vysokého počtu odpovědí. Léčba je spojena s vysokým počtem leuko a trombocytopenií, avšak závažné infekční komplikace jsme pozorovali jen tři. Vysoká dávka antracyklinových cytostatik vedla k signifikantnímu snížení ejekční frakce levé komory, ne však ke klinickým projevům srdeční nedostatečnosti. Průměrná hodnota EF před léčbou byla 56% (SD 5.2), při kontrole za 3 měsíce od ukončení terapie 52.5% (SD 6.4). Jako další, méně významné komplikace vznikají alopecie, mukozitida, nauzea a zvracení.

Kombinace epirubicinu (150 mg/m^2) cyklofosfamidu (1250 mg/m^2) ve dni 1 následovaná za 24 hodin podáváním G-CSF (5-10 μg/m^2) po 13 dní dosáhla ve dni 13 padesátinásobného zvýšení CFU-GM v periferní krvi. Průměrný výtěžek CD34+ buněk na jednu leukaferézu byl 2,6x10^6/kg (rozmezí 0,36-10,54) a průměrný počet CFU-GM dosáhl 1,8x10^5/kg (rozmezí 0,89-4,20). Ve 450 ml plné krve byly výtěžky CD 34+ buněk 1.8x10^6/kg (rozmezí 0.18-2.66) a CFU-GM 0.9x10^5/kg (rozmezí 0.05-1.72), což není dostatečné k optimální reparaci krvetvorby. Zvýšení počtu progenitorů chceme docílit zvětšením objemu odebrané krve a modifikací mobilizačního režimu.