

PODÁVÁNÍ INTERLEUKINU-2 V ČASNÉ FÁZI PO AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK U NEMOCNÝCH S MALIGNÍMI LYMFOMY – ESKALAČNÍ STUDIE

INTERLEUKIN-2 IMMUNOTHERAPY EARLY AFTER AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION FOR MALIGNANT LYMPHOMAS –A DOSE ESCALATION STUDY

M. TRNĚNÝ, K. BENEŠOVÁ, J. SLABÝ, M. APLTAUEROVÁ, J. MARINOV*, B. PROCHÁZKA** a P. KLENER

I. INTERNÍ KLINIKA, I. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UK A VFN
*ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVŇNÍ TRANSFUZE, PRAHA
**STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV, PRAHA

Souhrn: V předkládané studii byla ověřována možnost podávání interleukinu 2 (IL-2) časně po autologní transplantaci (ASCT). Bylo zařazeno celkem 13 nemocných, hodnotitelných bylo 12. V 7 případech se jednalo o Hodgkinovu chorobu, v 5 o ne Hodgkinův lymfom. Většina nemocných (9/12) byla připravována režimem BEAM. IL-2 byl podáván v dávkách 1 MIU/m², 2 MIU/m² a 2,5 MIU/m² subkutánně po hematologické restituci po dobu 28 dní. Medián zahájení aplikace byl 16,5 dne (12-28) po ASCT. Jako maximální tolerovatelná dávka byla v daném aplikačním režimu stanovena dávka 2 MIU/m², ze 3 nemocných ve stratu s dávkou 2,5 MIU/m² bylo podávání předčasně ukončeno u 2 nemocných. Nejčastější komplikací byly lokální kožní reakce u 11/12 (91,7 %), v jednom případě vedoucí k ukončení léčby. V průběhu monitorování byl zaznamenán signifikantní vzestup CD3+/HLA-DR+ lymfocytů (p 0,04), došlo rovněž k vzestupu počtu NK buněk (CD16+/CD56+) tento však nebyl významný. Pro porovnání terapeutických výsledků byly použity historické kontroly párované podle stavu při transplantaci, diagnózy, předléčení a věku. S mediánem sledování 2,3 roku v léčené a 2,8 v kontrolní skupině byla pravděpodobnost doby do progresu (PFS) ve dvou letech jako 66,7 % (40,1-93,4, CI 95 %) ve skupině s IL-2 a 54,0 % (23,9-84,1 (CI 95%) v kontrolní skupině. Pravděpodobnost celkového přežití (OS) byla 81,8% (40,1-93,4, CI 95%) respektive 68,2 % (38,4-98,0 (CI 95 %). Lze konstatovat že aplikace IL-2 v dávce 2 MIU/m² je brzy po hematologické restituci schůdná a vede k signifikantnímu vzestupu aktivovaných T lymfocytů. V našem souboru však nevedla k prodloužení PFS ani OS.

Klíčová slova: Hodgkin, lymfom, NHL, transplantace, IL-2, imunoterapie

Summary: The feasibility of IL-2 application in the early phase after autologous stem cell transplantation (ASCT) in dose escalation fashion was studied. 13 patients were recruited, 1 was however excluded due to protocol violation (IL-2 overdose) and refusal. There were 7 pts with Hodgkin's disease (HD) and 5 with Non-Hodgkin's lymphoma. The majority of pts (9/12) were treated with BEAM chemotherapy. IL-2 was administered subcutaneously in the following doses: 1 MIU/m²/d, 2 MIU/m²/d and 2.5 MIU/m²/d for 28 days. Therapy was started immediately after hematopoietic reconstitution in the median day 16.5 (12-28) after ASCT. Dose 2 (MIU/m²/d) was found as the maximal tolerated dose. Therapy was stopped in two of three pts treated with 2.5 MIU/m²/d due to signs of capillary leak syndrome. The most frequent adverse event was local cutaneous reaction (11/12, 91.7%), this progressive reaction led to pt withdrawal in one case. A significant increase of CD3+/HLA-DR+ lymphocytes was found during IL-2 therapy (p 0.04). There was an increase of CD16+/CD56+ lymphocytes, but it was not significant. The therapeutic results were compared with a historical case-controlled group (status at ASCT, pretreatment, diagnosis and age). The probability of progression free survival PFS at 2 years was 66.7% (40.1-93.4, CI 95%) in the IL-2 group and 54.0% (23.9-84.1, CI 95%) in the control with median follow-up 2.3 year and 2.8 years respectively. The overall survival probability was 81.8% (40.1-93.4, CI 95%) and 68.2% (38.4-98.0, CI 95%) respectively. We could conclude that the MTD of IL-2 is 2.0 MIU/m²/d in this administration scheme. We were not identity able to any significant therapeutic difference between the treated and case-controlled group.

Key words: lymphoma, transplantation, Hodgkin's disease, NHL, IL-2, immunotherapy

Úvod

Jedním z největších problémů autologní transplantace krvetvorných buněk je vysoké procento relapsů (5). U agresivních lymfomů bylo jednoznačně prokázáno, že autologní transplantace vede u nemocných s chemosenzitivním relapsem k signifikantně delšímu PFS i OS než standardní záchranná terapie (15). U nemocných s indolentními lymfomy bylo prokázáno po autologní transplantaci signifikantní prodloužení PFS, nicméně dosud neexistuje důkaz o prodloužení OS (17). Údaj o prodloužení celkového přežití při analýze pouze nemocných, kteří byli od začátku diagnózy léčeni na transplantacním pracovišti (Rohatiner 1998, osobní sdělení) lze považovat za ojedinělé. Za možné příčiny relapsů jsou obecně považovány přežívající nádorové buňky v organismu nemocné-

ho, spočívající v neschopnosti vysokodávkované terapie je eradikovat. Dále je to chybění imunitní reakce přítomné například u alogenních transplantací a známé jako reakce štěpu proti leukémii/lymfomu (GVL). Podezřívá se rovněž přítomnost nádorových buněk ve štěpu a jejich převod nemocnému při vlastní transplantaci. Přístupy snažící se snížit počet relapsů využívají tedy všechny tyto možnosti, ať se jedná o intenzifikaci protinádorové terapie (25), čištění štěpu (7) nebo zavádění tzv. cytokiny nebo buňkami zprostředkované imunity (3,18). V naší předkládané studii jsme se rozhodli po autologní transplantaci krvetvorných buněk (ASCT) podávat Interleukin-2 (IL-2), u kterého byla prokázána aktivita u NHL i při standardní terapii (6). Pro tuto studii jsme zvolili eskalaci dávky IL-2.

Materiál a metodika

Celkem bylo do studie zařazeno 13 nemocných, transplantovaných od VIII/95 do IX/97, z nichž u jedné došlo k náhodnému předávkování úvodní dávky (4 MIU/m²) a vzhledem k febrilní reakci nemocná se rozhodla dále nepokračovat ve studii a není proto dále hodnocena. Studie byla plánována jako párovaná studie, když jako kontrolní soubor bylo vybráno 12 nemocných z celkového počtu 88, kteří nedostávali žádnou potransplantační imunoterapii a kteří se shodovali s léčenou skupinou v následujících kritériích: stav při transplantaci, věk, počet předchozích terapií, diagnóza.

Charakteristika 12 nemocných, stejně jako párovaných kontrol je uvedena v tabulce 1. Většina nemocných byla transplantována ve fázi chemosenzitivního relapsu, nebo v 1. partiální remisi (PR) po nedosažení kompletní remise (KR) po standardní indukční terapii. Pouze jedna nemocná ve skupině s IL-2 byla transplantována v 1. velmi dobré PR. Převážná většina nemocných byla připravována režimem BEAM buď standardním nebo intenzifikovaným (celková dávka etoposidu 800 mg/m² resp. 1600 mg/m²) jak bylo popsáno dříve (25), výjimečně se jednalo o tandemovou transplantaci (2 nemocní) skládající se z podání melfalanu 200mg/m² v první fázi a režimu BEAM ve fázi druhé. Jednou se jednalo o podání přípravného režimu s celotělovým ozářením a vysokodávkovaným cyklofosfamidem (120 mg/kg). Všichni nemocní byli transplantováni pomocí nečištěných periferních progenitorových buněk (PBPC) separovaných po mobilizačním režimu skládajícím se z chemoterapie s následnou aplikací granulocytové kolonie - stimulujícího faktoru (G-CSF). U skupiny nemocných léčených po transplantaci pomocí IL-2 byla tato terapie zahajována co nejdříve po hematopoetické restituci. K terapii byl použit preparát Proleukin (Chiron). Terapie byla plánována jako eskalační studie v dávkách 1;2;2,5; a 3 MIU /m² podávaných po dobu 28 dní subkutánně. Jako toxicita vedoucí k předčasnému ukončení byla stanovena toxicita gr. 3 nebo 4 dle WHO. Při dosažení této toxicity bylo nutno zařadit další dva nemocné ve stejné dávkovací hladině. Při podávání byly měřeny hodnoty T lymfocytárních subpopulací pomocí průtokové cytometrie s komerčními protilátkami Becton-Dickinson podle dříve popsané metodologie (9,23). Hodnocen byl vývoj počtu CD3+/CD4+, CD3+/CD8+, CD3+/HLA-DR+ a CD3-/CD(16+56)+ lymfocytů. Terapeutické výsledky byly srovnány s kontrolní skupinou, když sledovanými parametry byla toxicita a dále období do progresu onemocnění (PFS) a celkové přežití (OS). Medián sledování přežívajících nemocných z léčené skupiny byl 2,3 roku (1,2-2,9). Medián sledování nemocných z kontrolní skupiny byl 2,8 roku (0,7-4,5).

Pro statistickou analýzu byl použit dvouvýběrový Studentův t-test, ANOVA, Coxova regresní analýza a Kaplan-Maierův model. Intervaly spolehlivosti (CI) byly počítány pro 95% spolehlivost.

Výsledky

I. Výsledky transplantační terapie

Ve sledované skupině došlo k přihojení v neutrofilech ($\geq 0,5 \times 10^9/l$) v den 10 (9-12) v trombocytech ($\geq 20 \times 10^9/l$) v den 9 (8-15). Ve skupině kontrolní to bylo ve dnech 11 (9-20) respektive 10,5 (8-32). Z hlediska peritransplantačních komplikací byla nejčastější komplikace vyššího stupně (3 nebo 4) dle WHO mucositis, která byla pozorována u 5 nemocných (41,7 %) ve sledované skupině a u 6 nemocných (50 %) ve skupině kontrolní. Jako nejlepší výsledek byla po transplantaci potvrzena KR u 6 nemocných (50 %) a PR u zbývajících 6 (50 %). Ve skupině kontrolní to byla KR u 8 nemocných (66,7 %) a PR u zbývajících 4 (33,3 %).

II: Podávání IL-2 - tolerance a toxicita

Aplikace IL-2 byla zahajována po dosažení počtu neutrofilů $\geq 1,0 \times 10^9/l$ a trombocytů $\geq 50 \times 10^9/l$. Dávkování probíhalo

Tabulka 1: Charakteristika nemocných léčených pomocí IL-2 v potransplantačním období a srovnání se skupinou kontrolní

skupina	IL-2	kontroly	významnost rozdílu (p)
n	12	12	
žen/mužů	7/5	4/8	ns
diagnosa			
Hodgkinova choroba	7	7	ns
NHL	5	5	ns
nízce maligní	0	0	
střední stupeň mal.	3	3	
vysoký stupeň mal.	2	2	
věk (průměr let)	32,5 (21-55)	33,2 (18-49)	ns
Stav při transplantaci			ns
1. PR	4	4	
chemosenzitivní relaps	6	6	
chemoresistentní onemocnění	2	2	
Počet předchozích linií terapie			ns
≤ 2	6	6	
≥ 3	6	6	
Transplantační režim			ns
BEAM (200/400)	9	11	
tandemová HDT	2	1	
jiný režim	1	0	
periferní krvetvorné buňky	12	11	
počet CD34+ x 10 ⁶ /kg	8,0 (4,6-24,9)	7,4 (1,2-18,5)	ns
počet CFU-GM x 10 ⁵ /kg	5,9 (0,5-6,7,5)	10,2 (0,7-52,0)	ns
přihojení v den			
v neutrofilech ($\geq 0,5 \times 10^9/l$)	10 (9-12)	11 (9-20)	ns
v trombocytech ($\geq 20 \times 10^9/l$)	9 (8-15)	10,5 (8-32)	ns

Tabulka 2: Nežádoucí účinky po podávání IL-2

komplikace	počet pacientů	%
celkem nemocných	12	100%
subfebrilie	4	33,3%
horečky	3	25,0%
kožní reakce	11	91,7%
hematol. toxicita	1	8,3%
zimnice, třesavka	2	16,7%

formou skutánní aplikace po dobu 28 dní. Medián zahájení podávání IL-2 byl 16,5 dne po převodu (12-28). Při zvyšování dávek IL-2 jsme dospěli k dávce 2,5 MIU/m². U 1 nemocné došlo k chybnému podání (dostala dávku 4 MIU/m²) a nemocná se rozhodla studii ukončit. Hodnoceno bylo tedy jen 12 nemocných. Výskyt nežádoucích účinků shrnuje tabulka č. 2. Nejčastějším nežádoucím účinkem byly kožní lokální reakce, která spočívala v zánětlivé induraci okolí místa vpichu, kde se po několika dnech vytvořila tuhá uzlík, který za několik týdnů kompletně zregredoval. Rozsah velikost lokální reakce u 5 nemocných přesáhla 5 cm v průměru a u jednoho nemocného došlo k rozsáhlému otoku, který byl nakonec důvodem ukončení terapie. Febrilní reakce byly tolerovatelné s podáváním paracetamolu. U 3 nemocných celkem bylo nutno podávání IL-2 ukončit z důvodů toxicity, jedna nemocná (2,5 MIU/m²) se rozhodla studii ukončit pro dušnost se suspekci na capillary leak syndrom, který však nebyl prokázán stejně jako jiná objektivní příčina dušnosti. U dvou dalších nemocných bylo podávání ukončeno jednak z důvodu rozsáhlé kožní reakce a u dalšího z důvodu počínajícího capillary leak syndromu. Počty nemocných i údajem o přerušení ukazuje tabulka č. 3. Za maximální tolerovatelnou dávku při daném systému podávání byla tedy považována dávka 2 MIU/m².

III: Laboratorní měření lymfocytárních subpopulací

Při měření byla pozorována značná interindividuální ale i v průběhu sledování intraindividuální variabilita. Nepozoro-

Tabulka 3: Počty nemocných v jednotlivých dávkových úrovních a předčasné přerušení

dávka	počet pacientů	předčasné přerušení	důvod ukončení
1 MIU/m ²	4	0	
2 MIU/m ²	5	1	kožní toxicita
2,5 MIU/m ²	3	2	v.s. capillary leak sy

Tabulka 4: Vývoj počtu lymfocytárních subpopulací v průběhu podávání IL-2

dny	CD4+/3+ (x10 ⁹ /l)		CD8+/3+ (x10 ⁹ /l)		CD3+/HLA-DR+ (x10 ⁹ /l)		CD56+/16+ (x10 ⁹ /l)	
	x	SD	x	SD	x	SD	x	SD
1	0,41	0,24	0,82	0,36	0,16	0,47	0,42	0,22
8	0,32	0,16	0,48	0,16	0,23	0,26	0,46	0,32
15	0,42	0,13	0,71	0,32	0,52	0,33	0,69	0,41
22	0,36	0,21	0,78	0,29	0,61	0,26	0,81	0,44
29	0,38	0,24	1,93	1,22	0,65	0,21	0,83	0,66
36	0,75	0,36	3,44	1,93	0,62	0,43	1,45	0,94
43	1,04	0,66	2,12	1,22	0,73	0,48	0,71	0,42

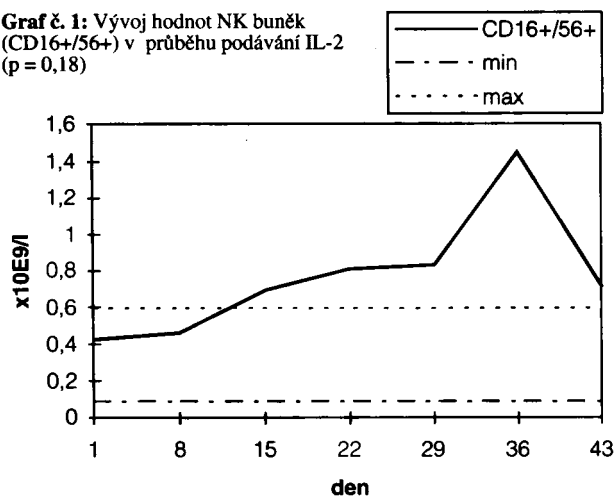
x průměr, SD směrodatná odchylka

vali jsme signifikantní rozdíl mezi jednotlivými skupinami nemocných na odlišných dávkách IL-2. Proto jsme hodnotili celou skupinu dohromady. Výsledky jsou zobrazeny v tabulce č.4. Ve skupině CD3+/CD4+ a CD3+/CD8+ jsme nepozorovali žádné signifikantní změny v průběhu podávání IL-2, pouze ve skupině CD8+ lymfocytů došlo při a po ukončení aplikace IL-2 k nárůstu jejich počtu. Trend ke vzestupu jsme pozorovali ve skupině přirozených zabíječů (NK buněk), kdy v průběhu podávání došlo téměř ke zdvojnásobení jejich počtu, nicméně vývoj nebyl statisticky významný (graf č. 1). Jediný významný trend v průběhu aplikace IL-2 byl pozorován ve vývoji počtu aktivovaných lymfocytů (CD3+/HLA-DR+), kde došlo k několika násobnému vzestupu této subpopulace lymfocytů (p 0,04) (graf č.2)

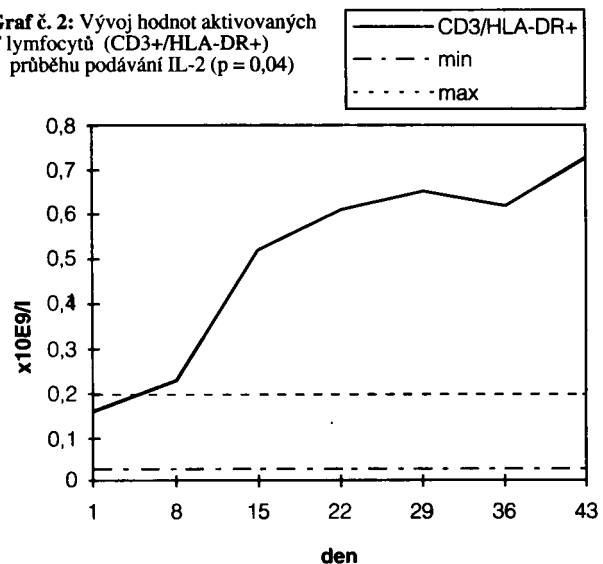
IV. Výsledek léčby

S mediánem sledování 2,3 roku u přežívajících nemocných došlo v sledované skupině k 5 relapsům (41,7 %) s mediánem 9 měsíců od transplantace. Pouze k jedinému relapsu došlo za dobu delší než 12 měsíců od transplantace (26 měsíců). Pravděpodobnost PFS byla ve 2 letech stanovena jako 66,7 % (40,1-93,4, CI). Za dobu sledování zemřely 2 nemocné

Graf č. 1: Vývoj hodnot NK buněk (CD16+/56+) v průběhu podávání IL-2 (p = 0,18)



Graf č. 2: Vývoj hodnot aktivovaných T lymfocytů (CD3+/HLA-DR+) v průběhu podávání IL-2 (p = 0,04)

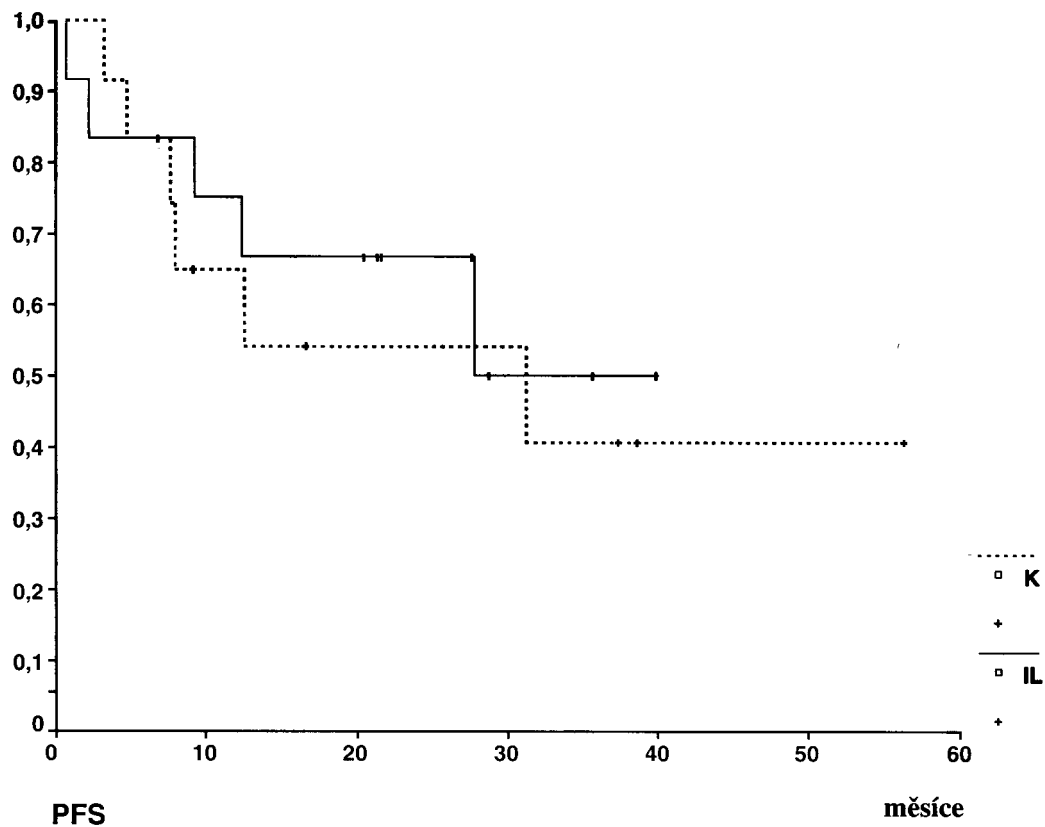


(16,7 %), obě na progresi základního onemocnění. Pravděpodobnost celkového přežití ve dvou letech byla stanovena na 81,8 % (40,1-93,4, CI). V kontrolní skupině párované v základních charakteristikách došlo s mediánem sledování 2,8 roku k 6 relapsům (50 %) s mediánem 7,5 měsíce od transplantace. K 5 relapsům došlo do 1 roku od transplantace a pouze v jednom případě došlo k relapsu za 2,5 roku od transplantace. Za dobu sledování došlo ke 3 úmrtím (25 %), ve dvou se jednalo o progresi onemocnění, v jednom případě původně Hodgkinovy nemoci byl při sekci diagnostikován nehodgkinský maligní lymfom postihující nitrobřišní uzliny a tlusté střevo. Pravděpodobnost PFS ve 2 letech byla stanovena na 54,0 % (23,9-84,1; CI) a pravděpodobnost OS na 68,2 % (38,4-98,0; CI). Křivky zobrazující PFS a OS a srovnávající skupinu léčenou se skupinou kontrolní jsou zobrazeny v grafu 3 a 4. Rozdíl mezi skupinami nebyl ani v jednom parametru signifikantně rozdílný.

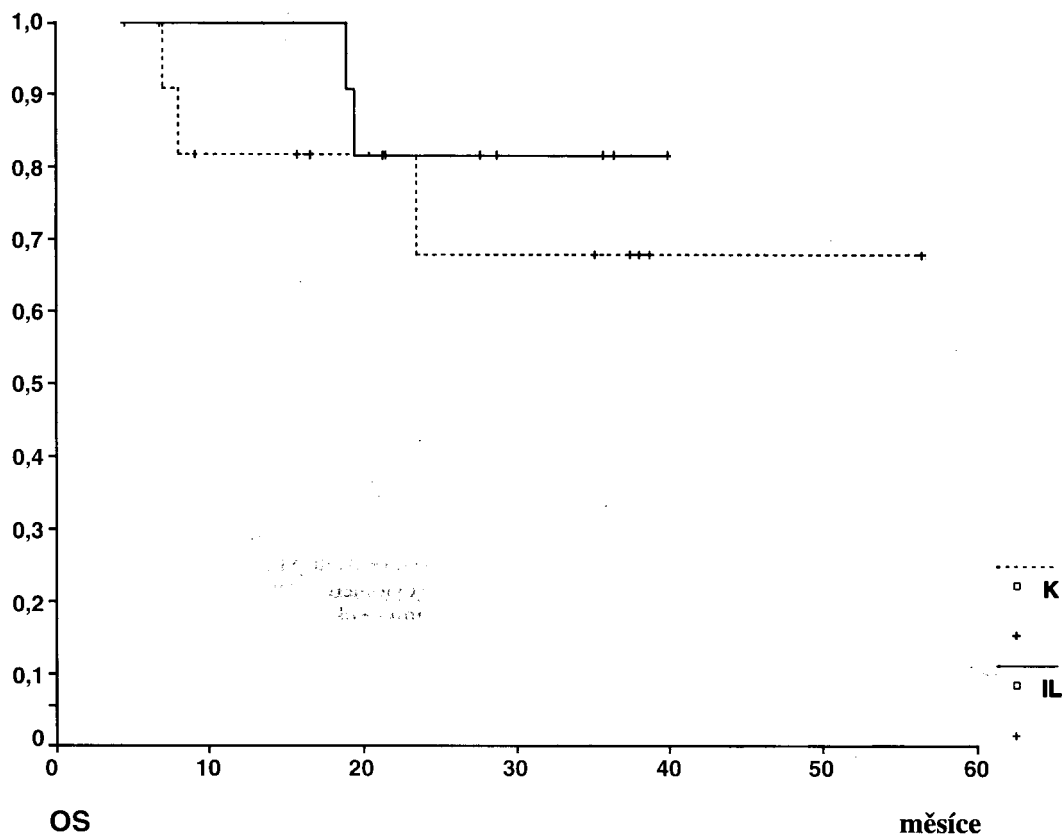
Diskuse

Zatímco v posledních letech výrazně poklesla peritransplantační mortalita pod 5 % u nemocných transplantovaných autologně pomocí periferních krvetvorných buněk, v celé naší sestavě nemocných transplantovaných na našem pracovišti pro lymfom pomocí PBPC to je 2,6% (nepublikovaná data), největším problémem zůstává vysoká četnost relapsů. Jednou z možností je imunotrapie, která v současnosti kromě použití interferonu alfa (IFN α) (1, 18, 25) je představována použitím IL-2 (4,8,14, 27), nebo kombinovaným použitím IL-2 a IFN α (13). IL-2 byl úspěšně použit i v rámci terapie relabovaných NHL (6). Mechanismem působení IL-2 je korekce funkčního deficitu T buněk, kompenzace výpadku produkce IL-2, kativace NK, LAK a cytotoxických T lymfocytů (3, 4, 19, 21). V naší studii jsme podávali IL-2 subkutánně (s.c.) brzy po transplantaci. Většina studií byla prováděna s intravenózní (i.v.) aplikací, bylo nicméně ukázáno, že s.c. aplikace co se imunologického efektu týče je rovnocenná s aplikací i.v. (12). V naší studii jsme prováděli monitorování lymfocytárních subpopulací pomocí průtokového cytometru, nebyly prováděny funkční testy. Ve shodě s dalšími se ukázalo, že počty CD3+ lymfocytů (jak CD4+ tak CD8+) se v průběhu aplikace IL-2 neměnily, vzestup nastal až po přerušení podávání IL2. Na druhou stranu přepokládán vzestup počtu NK buněk sice byl patrný v jistém trendu, ale nebyla prokázána jeho statistická významnost. Důvodem může být i výrazná interindividuální a intraindividuální variabilita. Na druhou stranu se potvrzuje, že při nižších dávkách není vzestup tak výrazný jako při dávkách vyšších (>6 MIU/m²/d) (4, 8, 12, 16). V průběhu podávání jsme pozorovali jedinou statisticky

Graf 3: Doba od transplantace do progresse onemocnění (PFS) ve skupině nemocných léčených interleukinem (IL) a v kontrolní skupině (K). ($p = 0,7$)



Graf 4: Celkové přežití (OS) od transplantace ve skupině nemocných léčených interleukinem (IL) a v kontrolní skupině (K). ($p = 0,5$)



významnou změnu a to vzestupu počtu CD3+/HLA-DR+ lymfocytů zhruba na čtyřnásobek. Terapie byla celkem dobře snášena v dávkách 1 MIU/m² a 2 MIU/m² s nuceným vysazením terapie pouze u jednoho nemocného z devíti. Vysazení bylo z důvodu rozsáhlých otoků v okolí s.c. aplikace a další netolerance této léčby. Kožní změny byly po aplikaci IL-2 a IFN((10) popsány i my jsme je pozorovali celkem v 92% případů, nicméně v tomto případě byly velmi výrazné. Lze soudit, že reakce organismu na podání IL-2 závisí nejen na dávce, ale také na časovém odstupu od transplantace. Časně po transplantaci jsou popsány ve vyšší frekvenci změny typu capillary leak syndromu (8, 16). Sami jsme pozorovali tyto změny u dvou nemocných s dávkou 2,5 MIU/m²/d, jednalo se o dušnost, i když v jednom případě nebylo možno vyloučit ani jistý stupeň psychické nadstavby. Je zajímavé, že tyto změny nejsou příliš často pozorovány i při dávkách vyšších, ale v dostatečném odstupu od transplantace jako je tomu např. ve studii Naglerové (13), kde je používána dávka 6MIU/m²/d, ale začíná se až 3 měsíce po ASCT. V naší sestavě byl medián začátku aplikace 16,5 dnu po převodu periferních progenitorových buněk. V současné době máme sami zkušenost s aplikací IL-2 a IFN(podle výše zmíněné studie (13) a jak kožní tak systémové příznaky byly výrazně slabší (nepublikovaná data).

Přes řadu pilotních studií, studií fáze II,(4,16,27) je dodnes nejednoznačně dokumentovaný klinický význam terapie pomocí IL-2 po autologní transplantaci pro lymfomy. V naší studii jsme z historických kontrol vytvořili párovanou kontrolní skupinu podle stavu při transplantaci, diagnózy, předlčení a věku. Při srovnání výsledků obou skupin nebyl zjištěn rozdíl ani v PFS ani v OS. Jedním z vysvětlení by mohl být popisovaný fakt, že u HD se imunologický efekt IL-2 neuplatňuje tak jako u NHL, ať se již jedná o standardní podávání (6) nebo podávání (27). Proti tomu svědčí pozorování Naglera (13), který popsal obdobný efekt jak u NHL tak u HD. V této studii ovšem byl podáván IL-2 spolu s IFN(s výraznějším odstupem po transplantaci, což může souviset s již zlepšenou restaurací imunitního systému (19). Stejně tak byl popsán efekt IFN α u HD po transplantaci (1).

Vzhledem k dosavadním výsledkům se jistě jeví cesta imunoterapie jako nadějná, lze se však domnívat, že nepůjde pouze cestou prosté aplikace samotného IL-2, ale spíše o kombinaci s in vitro aktivovanými LAK buňkami (11,19,28), kombinace IL-2 s IFNα (13) nebo zařazení nových látek jako je např. IL-12 či IL-15 (2,24).

Práce vznikla s podporou IGA MZ ČR 3589-3.

Literatura:

- Ascensao J. L., Miller K. B., Bilgrami S., et al.: Long-term follow up of immunotherapy with interferon (IFN) after marrow transplantation (BMT) for patients with lymphomas - Hodgkin and Non-Hodgkin. *Blood*, 88, 1996, suppl 1, 466.
- Banks R. E., Patel P. M., Selby P. J.: Interleukin 12: a new clinical player in cytotoxic therapy. *Br J Cancer* 71, 1995 655-659.
- Bilgrami S., Silva M., Cardoso A. et al.: Immunotherapy with autologous bone marrow transplantation: Rationale and results. *Exp Hematol* 1994, 22: 1039-1050.
- Bosly A., Guillaume T., Brice P. et al.: Effects of escalating doses of recombinant human interleukin-2 in correction functional T-cell defects following autologous bone marrow transplantation for lymphomas and solid tumors. *Exp Hematol* 20, 1992, pp 962-968.
- Fielding A., Pearce R., Schmitz N. et al.: More than 3000 transplantations for lymphoma in EBMT registry. What can we learn? 21st Annual Meeting of the EBMT, Davos, 1995.
- Gisselbrecht C., Maraninchi D., Pico J. L. et al.: Interleukin-2 treatment in lymphoma: A phase II multicenter study. *Blood*, 83, 1994, pp 2081-2085.
- Gribben J. G., Neuberger D., Freedman A. S. et al.: Detection by polymerase chain reaction of residual cells with the bcl-2 translocation is associated with increased risk of relapse after autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *Blood*, 81, 1993, pp3449-3457.
- Higuchi C. M., Thompson J. A., Petersen F. B., et al.: Toxicity and immunomodulatory effects of interleukin-2 after autologous bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Blood* 77, 1991 pp 2561-2568.
- Hudson L.: Immunological Techniques in clinical medicine. in *Practical Immunology*, eds. Hudson L, Hay FC, Blackwell Scientific Publications, 1989, pp 442-462.
- Klapholz L., Ackerstein A., Godenhersh et al.: Local cutaneous reaction induced by subcutaneous interleukin-2 and interferon alpha-2a immunotherapy following ABMT. *Bone Marrow Transpl* 11, 1993, pp 443-446.
- Klingemann H. G., Eaves C. J., Barnett M. J., et al.: Transplantation of patients with high risk acute myeloid leukemia in first remission with autologous marrow cultured in interleukin-2 followed by interleukin-2 administration. *Bone Marrow Transplant* 14, 1994, 389-396.
- Lopez-Jimenez J., Perez-Oteyza J., Munoz A. et al.: Subcutaneous versus intravenous low-dose IL-2 therapy after autologous transplantation: results of prospective, non-randomized study. *Bone Marrow Transpl* 19, 1997, 429-434.
- Nagler A., Ackerstein A., Or R., Nappastek E., Slavin S.: Immunotherapy with recombinant human interleukin-2 and recombinant interferon-alpha in lymphoma patients post autologous marrow or stem cell transplantation. *Blood* 89, 1997, pp. 3951-9.
- Negrier S., Ranchere J. Y., Philip I. et al.: Intravenous interleukin-2 just after high dose BCNU and autologous bone marrow transplantation. Report of a multicenter French pilot study. *Bone Marrow Transplantation*, 8, 1991, 259-264.
- Philip T., Gugliemi C., Hagenbeek et al.: Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*, 333, 1995, pp 1540-1544.
- Robinson N., Benyunes M. C., Topson J. A. et al.: Interleukin-2 after autologous stem cell transplantation for hematologic malignancy: a phase I/II study. *Bone Marrow Transplant* 19, 1997, 435-442.
- Rohatiner A. Z. S., Johnson P. W. M., Price C. G. A. et al.: Myeloblastic therapy with autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy for recurrent follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 12, 1994, 1177-1184.
- Schenkein D. P., Dixon P., Desforjes J. F. et al.: Phase I/II Study of cyclophosphamide, carboplatin and etoposide and autologous hematopoietic stem-cell transplantation with posttransplant interferon alfa-2b for patients with lymphoma and Hodgkin's disease. *J Clin Oncol*, 12, 1994, pp. 2423-2431.
- Slavin S., Nappastek E., Or R. et al.: Immune adjuvant therapy after high-dose therapy. in *High-Dose Cancer Therapy*, eds Armitage JO, Antman KH, Williams and Wilkins, Baltimore, 1995, pp 120-130.
- Slavin S., Nagler A., Nappastek A., et al.: Nonmyeloablative Stem Cell Transplantation and Cell Therapy as an Alternative to Conventional Bone Marrow Transplantation With Lethal Cytoreduction for the Treatment of Malignant and Nonmalignant Hematologic Diseases. *Blood* 91, 1998 pp. 756-763.
- Smith K. A.: Lowest dose interleukin-2 immunotherapy *Blood* 81, 1993, 1414-1423.
- Soiffer R. J., Murray C., Cochran K. et al.: Clinical and immunologic effects of prolonged infusion of low-dose recombinant interleukin-2 after autologous and T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation *Blood* 79, 1992 pp 517-526.
- Sun T.: Technical Appendix in *Flow Cytometric Analysis of Hematologic Neoplasms*. Igaku Shoin Medical Publisher, 1993, pp. 206-213.
- Talmadge J. E., Kelsey L. S., Morrissey P. J., Jackson J. D.: Hematopoietic, immunologic and therapeutic properties of IL-15. *Blood*, 1998, 92 suppl 1: No 1225.
- Trněný M., Slabý J., Benešová K, et al.: Intenzifikace vysokodávkované chemoterapie BEAM s autologní transplantací periferních krevetvorných buněk u nemocných s nehodgkinským maligním lymfomem. *Hematologie a Transfuziologie*, 8, 1998, str 3 -10.
- Trněný M., Aptaurová M, Procházková B, Klener P.: Podávání interferonu alfa jako potransplantační imunoterapie u maligních lymfomů - párovaná studie. *Čas Lék Čes*, 1999, v tisku.
- Vey N., Blaise D., Tiberghien P. et al.: A pilot study of autologous bone marrow transplantation followed by recombinant IL-2 in 25 malignant lymphomas. *Bone Marrow Transplant* 17, 1996, Suppl. 1, 621.
- Weber J. S., Yang J. C., Topalian S. L. et al.: The use of interleukin-2 and lymphokine activated killer cells for the treatment of patients with Non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*, 10, 1992, pp 33-40.