

FILGRASTIM A AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE

FILGRASTIM IN ACUTE MYELOID LEUKAEMIA

DOUBEK, M., MAYER, J.

INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA LF MU A FN BRNO

Souhrn: Klinické studie s filgrastimem a dalšími kolonie stimulujícími faktory jsou prováděny už více než 10 let. Tyto látky byly u pacientů s akutní myeloidní leukémií zkoušeny proto, aby redukovaly procento závažných infekcí po chemoterapiích. Randomizované studie potvrdily, že aplikace filgrastimu vede ke snížení rizika infekce po chemoterapii. Druhým důvodem k podávání kolonie stimulujících faktorů u nemocných s akutní myeloidní leukémií byl „priming“ leukemických blastů – zvýšení účinnosti chemoterapie. Filgrastim byl podáván před a během chemoterapie, aby došlo ke zvýšení citlivosti leukemických blastů na léčbu. Výsledky randomizovaných studií ale zatím nepotvrdily účinnost této strategie. U pacientů s akutní myeloidní leukémií je filgrastim úspěšně používán i při mobilizaci krvetvorných buněk periferní krve. Podávání filgrastimu u nemocných s akutní myeloidní leukémií je bezpečné.

Klíčová slova: filgrastim – akutní myeloidní leukémie

Summary: Clinical trials of filgrastim and other colony-stimulating factors have been conducted for over 10 years. These agents were hypothesized to reduce rates of infection in the initial weeks after administration of chemotherapy in acute myeloid leukaemia patients. Large randomized trials has reported that a decrease in infection occurs as a result. The second major use of filgrastim has been in priming acute myeloid leukaemia blasts to the cytotoxic actions of chemotherapy. Filgrastim has been administered before and during chemotherapy with the aim to increase the number of leukaemic blasts in cell cycle and enhance their responsiveness to chemotherapy. The results of several randomized trials do not justify application of this strategy. In acute myeloid leukaemia patients, filgrastim is successfully used in peripheral blood stem cells mobilisation as well. Filgrastim administration is safe in acute myeloid leukaemia patients.

Key words: filgrastim – acute myeloid leukaemia

Úvod

Již před několika desítkami let bylo známo, že krvetvorba je řízena specifickými faktory ovlivňujícími zrání a diferenciaci krevních buněk. Tyto faktory byly postupně poznávány a syntetizovány.

Rekombinantní neglykozylovaný granulocytární kolonie stimulující faktor (G-CSF) – filgrastim – byl syntetizován v letech 1984 – 1986 (74). Souhlas k rutinnímu podávání filgrastimu pacientům po chemoterapii byl dán v roce 1991 ve Spojených státech (86).

Kromě filgrastimu je používána i druhá forma rekombinantního G-CSF, glykozylovaný G-CSF – lenograstim, který byl v Evropě registrován o dva roky později než filgrastim. Lenograstim se v účinnosti nijak od filgrastimu neliší (86).

Filgrastim je nyní používán k rychlejšímu obnovení krvetvorby u pacientů po chemoterapiích, po transplantacích kostní dřeviny, při sběru hematopoetických kmenových buněk z periferní krve (*peripheral blood stem cells*, PBSC) nebo v terapii některých neoplastických krevních nemocí jako aplastické anémie či chronických neutropenií. Dosud není zcela jasné a pevně určené postavení filgrastimu v terapii akutní myeloidní leukémie (AML).

Filgrastim

Filgrasim je glykoprotein o molekulární hmotnosti přibližně 20 kDa. Je produkován makrofágy, buňkami stromatu kostní dřeviny, endoteliemi a fibroblasty (1). Úlohu filgrastimu v obraně proti bakteriální infekci ukazuje obrázek 1.

Struktura filgrasimu je znázorněna na obrázku 2.

Farmakologie a farmakokinetika filgrastimu byla studována na hladavcích, primátech i zdravých dobrovolnících a pacien-

tech (33, 80). Podle těchto studií má lék stálý a dobře predikovatelný farmakologický profil, dává-li se podkožně nebo intravenózně (86).

Myši s deficitem endogenního G-CSF trpí chronickou neutropenií (49). Množství endogenního G-CSF v krvi vzrůstá při infekci nebo u jedinců s neutropenií způsobenou jinými faktory než nedostatkem endogenního G-CSF (18).

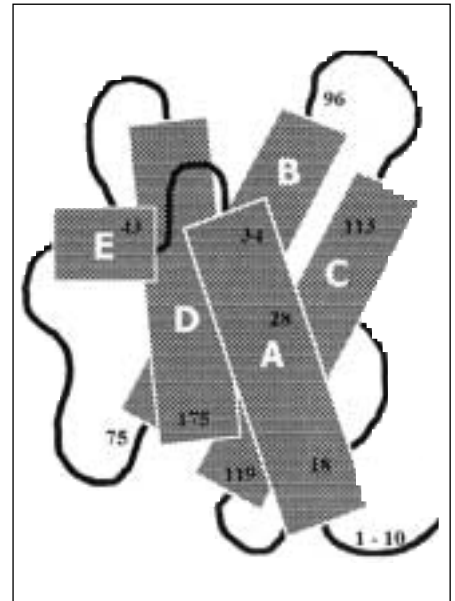
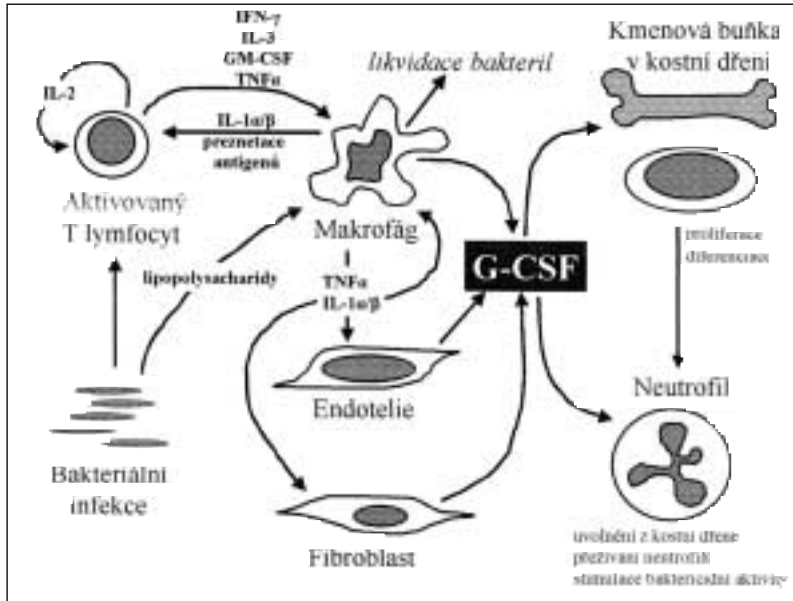
Filgrasim selektivně a specificky stimuluje proliferaci a diferenciaci neutrofilních prekurzorů (85). Filgrastim účinkuje stejně u mladých zdravých dobrovolníků i jedinců vyššího věku (42).

Lék se váže se na specifický receptor (viz dále). Gen kódující G-CSF se nachází na dlouhém rameni 17. chromozomu (17q21-23) (86).

Jediná podkožní aplikace filgrastimu v dávce 10 µg/kg vede k maximálnímu vzestupu sérové koncentrace této látky za 2 – 4 hodiny po podání. Podání je prováděno dvojrucholovým vzestupem absolutního počtu neutrofilů. Jeden vzestup nastává během 2 - 4 hodin po aplikaci, další pak za 1 – 2 dny po podání G-CSF. Maturace neutrofilů je zkrácena z 5 dní na 1 den (51, 86). Některé studie ukazují, že po aplikaci filgrastimu nastává iniciálně přechodný pokles cirkulujících neutrofilů. Tento jev je podle všeho dán adhezí neutrofilů k endotelu (10, 86). Klinický efekt filgrastimu je dán jeho působením na buňky neutrofilní linie. Objevily se ale také zprávy, že lékem mohou být stimulovány i progenitorové buňky, čili blasty (61).

Po podání filgrastimu onkologickým nemocným v dávce 11,5 µg/kg formou třicetiminutové intravenózní infúze byla dosažena maximální sérová koncentrace 384 ng/ml. Hladina léku se vrací k normě po 14 až 18 hodinách od podání (86). Lék se po subkutánní aplikaci vstřebává velmi rychle, takže není roz-

Obr. 1. G-CSF (filgrastim) a bakteriální infekce. • **Obr. 2. Schematické znázornění struktury filgrastimu.** Filgrastim je glykoprotein skládající se ze čtyř antiparalelních α helixů označených A, B, C a D. Pátý helix, E, je krátký. Helixy jsou spojené jednou krátkou a dvěma dlouhými smyčkami. Čísla udávají pořadí aminokyselin. Podle: Welte a kol., 1996.



díl v rychlosti dosažení maximálních sérových koncentrací po intravenózním či podkožním podání (59). Biologická dostupnost filgrastimu podávaného v malých dávkách (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) zdravým dobrovolníkům byla 53 %. Pokud je lék podáván v dávkách terapeutických, jeho biologická dostupnost vzrůstá nad 80 % (90).

Receptor pro filgrastim

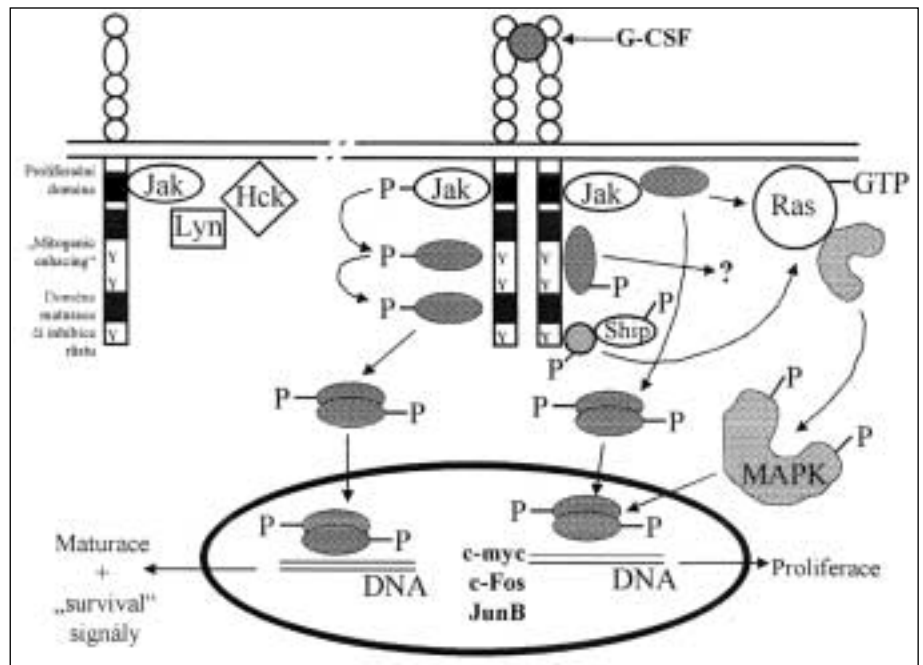
Receptor pro filgrastim (G-CSF-R) je zástupcem superodiny cytokinových receptorů typu I. G-CSF-R je exprimován dominantně na povrchu buněk neutrofilní řady. Počet receptorů pro filgrastim na povrchu buněk se zprvu zvyšuje s maturací buňky, nejvíce je jich na promyelocytech, posléze mírně klesá (1, 86). Na povrchu jednoho neutrofilního granulocytu v periferní krvi je 1000 – 2000 G-CSF-R (36). G-CSF-R může být přítomen i na krvetvorných kmenových buňkách (i na leukemických blastech), dále je slabě zastoupen na povrchu krevních destiček i na endoteliích, placentě a na mnoha fetálních orgánech (1, 57). Hlavní funkcí G-CSF-R je přenos signálů ovlivňujících proliferaci, diferenciaci a přežívání buňky (1).

Gen pro G-CSF-R se nachází na krátkém rameni 1. chromozomu (1p35-p34.3) (86). G-CSF-R byl studován především na myším modelu. Myší gen pro G-CSF-R vykazuje 72% shodu v pořadí nukleotidů s lidským G-CSF-R genem a myší G-CSF je, co se týká pořadí aminokyselin, s lidským G-CSF shodný ze 62 % (1). Lidský receptor pro filgrastim má 5 izoform, což je dáno různými možnostmi sestřihu mRNA pro G-CSF-R (48). Fyziologický význam izoform G-CSF-R není dosud objasněn (1).

G-CSF-R je transmembránový glykoprotein o molekulární hmotnosti přibližně 130 kDa (1). Extracelulární oblast G-CSF-R má šest strukturálních domén (1, 48). Na transmembránovou doménu G-CSF-R navazuje cytoplazmatická část, která obsahuje dvě velmi konzervativní oblasti homologní s ostatními typy cytokinových receptorů typu I. Filgrastim se váže na G-CSF-R extracelulárně v oblasti tzv. F-G kličky (1). Mutace v extracelulárních oblastech G-CSF-R mohou vést k závažným klinickým projevům. Byl například popsán případ těžké kongenitální neutropenie, která nebyla léčitelná podáním filgrastimu (84).

G-CSF-R tvoří po navázání ligandu, podobně jako receptor pro erythropoetin, homodimery (viz obrázek 3). Heterodimery

Obr. 3. Schéma přenosu signálu prostřednictvím G-CSF receptoru (G-CSF-R). Navázání G-CSF způsobuje tvorbu homodimerů G-CSF-R, která je následována aktivací řady cytoplazmatických signálních proteinů, které pak ovlivňují proliferaci, diferenciaci a/nebo přežívání buňky. Blíže viz text. Podle: Akbarzadeh a Layton, 2001.



tvorí například receptor pro interleukin-2, jiné komplexy receptor pro interleukin-6 (1).

Filgrastim je hlavním regulátorem granulopoézy *in vivo*. Stimuluje proliferaci, diferenciaci a přežívání granulocytů. Stimuluje i jejich uvolňování z kostní dřeně (1, 9). Tyto jeho účinky jsou zprostředkovány G-CSF-R a signálními drahami, které na G-CSF-R navazují. Po navázání ligandu je G-CSF-R fosforylován (na tyrozinech). Tím je iniciována kaskáda fosforylace dalších proteinů. U zralých neutrofilů jde o tyrozinkinázy Lyn a Syk, serinové/treoninové kinázy ERK1, ERK2 a MEK a dále o regulační transkripci Stat3 a *c-rel*. V případě proliferujících buněk jsou fosforylovány Janus tyrozinkinázy (Jak1, Jak2 a Tyk2) či transkripční faktory Stat1, Stat3 a Stat5 (1). Zkratka Stat znamená *signal transducer and activator of transcription*. Přenos signálu z G-CSF-R do nitra buňky je znázorněn na obrázku 3. Jak kinázy představují jednu z nejdůležitějších signálních drah. Jak1 deficitní myši zmírají v prenatálním období (1). Zajímavé ale je, že žádná z Jak deficitních myši nevykazuje defektní odpověď na podávání filgrastimu. Jejich role v přenosu signálu z G-CSF-R je pravděpodobně redundantní (23). Kromě Jak/Stat cesty přenosu signálu hraje velmi významnou roli v přenosu informace z G-CSF-R ještě cesta Ras/MAPK (1). MAPK je *mitogen-activated protein kinase*. Inhibiční vliv na přenos signálu z G-CSF-R má například SH2 obsahující inositol fosfatáza (Ship) či supresory signální transdukce Socs inhibující cestu Jak/Stat (76).

Otázkou funkce neutrofilů stimulovaných G-CSF nebo GM-CSF bez ohledu na jejich absolutní počet se zabývala řada prací. Filgrastim *in vitro* i *in vivo* stimuluje schopnost adherence neutrofilů, fagocytózu, baktericidní schopnosti granulocytů, zvyšuje expresi Fcγ immunoglobulinového receptoru a podílí se na zvýšení produkce reaktivních forem kyslíku. Pozitivní ovlivnění chemotaxe filgrastimem není zcela jednoznačné (75, 79).

Terapeutické užití filgrastimu

Ačkoli podle studií *in vitro* není filgrastim tak silným stimulantem granulopoézy jako GM-CSF či interleukin-3, výsledky klinických studií ukazují, že *in vivo* jsou jeho účinky s uvedenými cytokiny plně srovnatelné (1). Proto je filgrastim v klinice hojně používán. Bodey a kol. (7) z MD Anderson Cancer Center ve své přelomové práci prokázali už v roce 1966, že závažné bakteriální infekce (hlavně gram-negativní bakteriémie) se objevují především u nemocných s akutní leukémií, kteří mají méně než 100 granulocytů v 1 μl periferní krve. Těžká neutropenie, která trvá déle než 3 týdny je velkým nebezpečím rozvoje život ohrožující infekce. Z tohoto poznatku je zřejmé, jak důležitá může být aplikace filgrastimu neutropenickým nemocným. Argumentem pro užívání filgrastimu je i jeho nízká toxicita (29).

Filgrastim je používán v terapii mnoha chorob. Je podáván pacientům s chronickými neutropeniemi – cyklická, idiopatická, těžká kongenitální (41, 67, 86), od roku 1991 je úspěšně dáván po chemoterapiích u pacientů se solidními tumory či lymfoidními malignitami (2, 19, 29, 43, 79, 86), může být součástí terapie těžké aplastické anémie (21), byl zkoušen u pacientů s AIDS a bakteriálními infekcemi (39) nebo u nemocných s mykózami, po transplantaci jater, s ARDS či u septických pacientů (86). Filgrastimem lze navodit zlepšení parametru krevního obrazu pacientů s myelodysplastickými syndromy (21, 86). Filgrastimu a AML budou věnovány další odstavce. Samozřejmostí je dnes již použití filgrastimu k mobilizaci a získání štěpu PBSC. Multilineární příhojení PBSC po vysoko-dávkované chemoterapii je rychlejší než příhojení krvetvorných buněk z kostní dřeně. Mobilizaci PBSC je rutinně prováděna buď samotným růstovým faktorem krvetvorby nebo růstovým faktorem doplňujícím podání chemoterapie. Filgrastimem lze stimulovat zdravé dárce PBSC (73) a samozřejmě i pacienty s hematologickými či nehematologickými chorobami. První zprávu o takovéto mobilizaci podal Dührsen a kol.

(24). Jednou z prvních prací věnující se stimulaci filgrastimem v hematonekologii je práce Sheridana a kol. (70), kteří tímto lékem stimulovali pacienty s nemyeloidními malignitami špatné prognózy.

Toxicita a bezpečnost filgrastimu

Toxicita filgrastimu u pacientů s AML stála ve středu zájmu několika studií. Závěr všech prací zní, že toxicita filgrastimu je nízká. Častější (u 10 – 20 % pacientů) jsou jen bolesti svalů a kostí. Raritní jsou lokální kožní změny v místě aplikace. Mohou se vyskytnout elevace sérových hladin alkalické fosfatázy a kyseliny močové (22, 63, 79, 86). Viz dále.

Poměr cena/prospěch při užití filgrastimu

Na téma cena/prospěch filgrastimu bylo publikováno několik sdělení. Některá z nich se týkají přímo pacientů s AML. Bennett a kol. (5) nezjistili žádný zásadní rozdíl v ceně terapie starších pacientů s AML dostávajících po chemoterapii placebo nebo filgrastim. Šlo o pacienty zařazené do studie Godwina a kol. (35). Průměrná cena terapie nemocného dostávajícího placebo byla 49 693,- \$, průměrná cena terapie pacienta dostávajícího filgrastim byla jen nepatrně vyšší: 50 593,- \$. Ti samí autoři dokonce při analýze nákladů terapie nemocných zařazených do studie Roweho a kol. (68), jedné studie jednoznačně prokazující prospěch podávání růstového faktoru krvetvorby (konkrétně GM-CSF) nemocným s AML po chemoterapii, zjistili, že cena terapie ve skupině dostávající placebo byla o něco vyšší než cena terapie ve skupině dostávající GM-CSF (40 722,- \$ versus 38 412,- \$)(6).

Většina dalších prací zaměřených na analýzu cena/prospěch podávání růstových faktorů krvetvorby u pacientů s hematologickými malignitami přišla také k závěru, že podávání těchto preparátů přináší nejen klinický, ale i ekonomický benefit u mladých i starších pacientů (6, 54).

Akutní myeloidní leukemie a filgrastim

Klinické studie s filgrastimem a ostatními cytokiny v terapii AML už jsou prováděny více než 10 let.

Ačkoliv bylo prokázáno, že filgrastim urychluje restituci krvetvorby po myelosupresivní léčbě, jeho použití u pacientů s AML bylo donedávna předmětem sporů. Odpovědi na mnoho otázek se ještě stále hledají a těžko odhadnout, zda bude někdy vysloven definitivní závěr (29, 64, 71). *In vitro* totiž může filgrastim stimulovat růst klonu leukemických buněk (81). *In vivo* však tyto obavy nakonec potvrzeny nebyly (29, 52). Americká společnost Food and Drug Administration dokonce zpočátku odmítala používání filgrastimu u pacientů s AML (29).

Rozhodnutí podávat filgrastim pacientům s AML má několik rovin. Nezanedbatelný je již zmiňovaný fakt, že filgrastim urychluje obnovu krvetvorby po chemoterapii („recovery“ neutrofilů zkracuje průměrně o 2 – 5 dní) (25). Další rovinu představuje skutečnost, že růstové cytokiny krvetvorby pravděpodobně mohou zvýšit citlivost nádorových blastů k chemoterapeutikům (*priming*) (8, 12, 25, 32). Růstové cytokiny krvetvorby by mohly zvýšit počet blastů v S-fázi buněčného cyklu či ovlivnit pro- a antiapoptické proteiny buňky (25). Dále zvyšují například inkorporaci cytosinarabosidu do DNA blastů (40, 79). Jiné práce naopak ukazují, že filgrastim snižuje tvorbu cytosinarabosid trifosfátu, aktivního metabolitu cytosinarabosidu, v leukemických buňkách (30, 31), ale zvyšuje tvorbu aktivního metabolitu fludarabinu (31). Dlouho se již spekuluje i o tom, že filgrastim by mohl obnovit zastavenou maturaci leukemických blastů (79). Všechny tyto poznatky si vyžadují další výzkum (32). Důvody, proč by mohly být růstové cytokiny krvetvorby u nemocných s AML podávány již během chemoterapie, jsou uvedeny v tabulce 1.

První klinické studie zabývající se podáním cytokinů během nebo po chemoterapii pacientů s AML se objevují počínaje rokem 1990.

Tab. 1. Důvody podávání růstových cytokinů krvetvorby u nemocných s AML během chemoterapie.

Zvýšení přechodu buněk z G0 fáze do G1 a S fáze buněčného cyklu
Zvýšení intracelulární inkorporace ARA-C trifosfátu
Zvýšení cytotoxicity chemoterapie
Zvýšení chemoterapií navozené apoptózy
Zvýšení hladiny topoizomerázy II
Downregulace MDR-1

Ohno a kol. (63) publikovali v roce 1990 výsledky randomizované prospektivní studie zabývající se účinností a bezpečností filgrastimu po standardní chemoterapii u 108 pacientů s refrakterní nebo relabovanou AML. Filgrastim v dávce 200 µg/m²/den byl podáván od druhého dne po ukončení chemoterapie do vzestupu leukocytů nad 1,5 × 10⁹/l. Filgrastim o týden zkrátí „recovery“ neutrofilů ve srovnání se skupinou nemocných, kteří filgrastim nedostávali. Incidence febrilní neutropenie filgrastimem ovlivněna nebyla, ale incidence prokázaných infekcí byla ve skupině pacientů dostávajících filgrastim snížena. Procento remisí AML po terapii se ve skupině pacientů léčených filgrastimem nelišilo od pacientů ostatních.

Podobné výsledky lze při terapii filgrastimem po chemoterapiích očekávat i u starších nemocných s AML (8).

Ohno a kol. (64) se dále zabývali otázkou, zda podávání filgrastimu nemocným s AML již před chemoterapií a dále v jejím průběhu může vést ke zvýšení účinnosti léčby stimulací „klidových“ leukemických buněk. Tato studie prokázala rychlejší obnovení krvetvorby u filgrastimem léčených nemocných, avšak incidence febrilní neutropenie byla stejná. Kompletní remise dosáhlo 50 % pacientů léčených filgrastimem a 37 % léčených placebem. Tento rozdíl ale nebyl statisticky signifikantní. Přežití bez příznaku nemoci u pacientů dostávajících filgrastim nebylo zlepšeno.

Estey a kol. (27) studovali, zda filgrastim aplikovaný před, v průběhu a po chemoterapii s fludarabinem a cytosinarabiosidem u pacientů s nově diagnostikovanými AML nebo myelodysplastickým syndromy (MDS) ovlivňuje počet kompletních remisí, infekcí, restituci krvetvorby a přežití nemocných. Celkem byly analyzovány výsledky terapie 112 pacientů. Vesměš šlo o pacienty staré s negativními prognostickými faktory. Tato studie neprokázala, že by filgrastim představoval pro tyto nemocné zlepšení prognózy.

Výsledky těchto prací potvrzují i další sdělení (86).

Pacienti s AML, kterým se nemoc vrátila po alogenní transplantaci kostní dřeně mají velmi špatnou prognózu. Jen menšinu z nich ustupuje nemoc po podání další chemoterapie a téměř nikdo dlouhodobě nepřezívá. Giralta a kol. (34) proto sledovali, zdali může filgrastim u těchto nemocných stimulovat normální krvetvorbu. Filgrastim (5 µg/kg/den) byl podáván sedmi ženám, kterým AML relabovala do 360 dnů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Tři z nich dosáhly hematologické a cytogenetické remise. Autoři práce se proto

domnívají, že filgrasim může být efektivní u určité skupiny pacientů s časným relapsem AML po alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Interpretací totiž může ale činit fakt, že za 7 – 14 dní po nasazení filgrastimu byl vysazen cyklosporin a steroidy. K remisím mohlo proto dojít v důsledku vysazení imunosuprese a potenciaci účinku štěpu proti leukemii. Godwin a kol. (35) neprokázali studií na 234 nemocných s AML vliv filgrastimu podávaného s a po chemoterapii na počet dosažených kompletních remisí. Ke stejnému výsledku dospěli i japonští autoři, kteří podávali filgrastim po indukční terapii pacientům s nově diagnostikovanou AML. Výsledky léčby těchto nemocných byly srovnávány se skupinou dostávající placebo. Celkem bylo analyzováno 270 nemocných. Počty kompletních remisí, pravděpodobnost pětiletého přežití bez příznaku nemoci a celkové přežití obou skupiny pacientů nebylo statisticky rozdílné (82).

K rozdílným zjištěním naopak dospěli Dombret a kol. a Ogata a kol. Dombret a kol. (22) srovnávali filgrastim s placebem podávané 173 pacientům s AML léčeným chemoterapií. Zjistili, že nemocní, jimž byl filgrastim podáván, dosáhli vyššího počtu kompletních remisí (70 % remisí u nemocných léčených filgrastimem a 47 % remisí ve skupině dostávající placebo). Ogata a kol. (60) publikovali, že filgrastim podávaný pacientům s AML spolu s postremisní chemoterapií přináší nemocným s AML benefit. Filgrastim snižoval toxicitu konzolidační léčby složené z cytosinarabiosidu, daunorubicinu, 6-merkaptopurinu a prednisolonu, a také prodloužoval trvání kompletních remisí. Šlo však o pilotní studii jen na 26 nemocných.

Výsledky podobně postavených studií s GM-CSF dospěly k podobně nejednoznačným výsledkům (79). Shrnutí závěrů několika studií fáze III studujících roli růstových faktorů krvetvorby (zejména GM-CSF) shrnuje tabulka 2.

Vliv růstových faktorů krvetvorby na zlepšení celkového přežití nemocných s AML tedy jednoznačně prokázán nebyl (38, 82). Studiemi, jejichž výsledek jednoznačně prokazuje pozitivní vliv růstového faktoru krvetvorby na celkové přežití nemocných nebo přežití bez příznaku nemoci jsou práce Roweho a kol. (68) (pozitivní vliv GM-CSF) a práce Kerna a kol. (46) (pozitivní vliv filgrastimu). Prodloužení celkového přežití nemocných s AML publikované v práci Roweho a kol. je ale nutné přičíst zejména snížení mortality na infekční komplikace. Jen v jediné studii (93) bylo přežití nemocných s AML dostávajících růstový faktor krvetvorby (GM-CSF) kratší než v kontrolní skupině. Možné příčiny rozdílů výsledků studií zabývajících se rolí růstových faktorů krvetvorby v terapii AML uvádí tabulka 3.

Dovolují však tyto ne zcela jasné závěry vyřadit filgrastim z terapie AML? Na tuto otázku je třeba odpovědět, že ne. Je potřeba dalších studií. Vždyt mnoho z těch dosud publikovaných bylo prováděno zejména na starších pacientech nebo na pacientech s rezistentními chorobami, což jejich výsledky nepochybně poznamenalo (79). V současné době se tak množí zprávy o chemoterapeutických režimech doplněných o filgrastim a jejich účinnosti v terapii AML. Polští autoři (66) publikovali zprávy o účinnosti režimu CLAG (kladribin + cytosinarabiosid + filgrastim) v terapii rezistentní AML, kterým lze navodit 50 % kompletních remisí. Nemálo zpráv bylo

Tab. 2. Shrnutí výsledků studií fáze III zabývajících se podáváním růstových faktorů krvetvorby s chemoterapií u nově zjištěných AML.

Studie	Typ CSF	Toxicita CSF	Stimulace leukemického klonu	„Recovery“ polymorfo-nukleárů	Počet kompletních remisí	Celkové přežití
CALBG - Stone a kol. (77)	GM-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	NEOVLIVNĚN	NEOVLIVNĚNO
Witz a kol. (81)	GM-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	NEOVLIVNĚN	NEOVLIVNĚNO
Zittoun a kol. (91)	GM-CSF	NE	ANO	NEOVLIVNĚNO	SNÍŽEN	NEOVLIVNĚNO
ECOG - Rowe a kol. (68)	GM-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	NEOVLIVNĚN	ZLEPŠENO
Büchner a kol. (12)	GM-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	ZVÝŠEN	NEOVLIVNĚNO
Dombret a kol. (22)	G-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	ZVÝŠEN	NEOVLIVNĚNO

Tab. 3. Příčiny diskrepancí výsledků klinických studií hodnotících vliv růstových faktorů krvetvorby na terapii AML. Podle: Geller, 2002.

Rozdílný věk pacientů ve studiích
Rozdílné chemoterapie
Různá pokročilost choroby
Rozdílné typy AML (<i>de novo</i> , sekundární, relabované)
Rozdílný „timing“ podávání růstových faktorů
Různý stupeň hypoplázie kostní dřeně
Aplikace různých růstových faktorů

napsáno o efektu režimu FLAG (fludarabin + cytosinarabosid + filgrastim) nebo FLAG-Ida (FLAG + idarubicin) v terapii rezistentních nebo relabovaných AML. Těmito režimy lze navodit u více než 50 - 70 % nemocných kompletní remisí nemoci (16, 26, 69). Podobnými režimy jsou chemoterapie FLANG (FLAG + mitoxantron), účinná v terapii rezistentních AML i blastických zvrátů chronické myeloidní leukemie (56), S-HAM (vysokodávkovaný cytosinarabosid a mitoxantron) + filgrastim (46) či chemoterapie kombinující vysokodávkovaný cytosinarabosid, idarubicin a filgrastim, jejíž efekt byl ověřen zejména u *de novo* AML (4). Nejde ale, bohužel, o studie randomizované. Filgrastim lze bezpečně použít u pacientů s AML i k urychlení obnovy krvetvorby po autologní transplantaci krvetvorných buněk (3).

Byly dokonce publikovány ojedinělé zprávy, že samotný filgrastim bez podání chemoterapie může navodit kompletní remisí některých AML (hypoplastická AML, AML s t(8;21)) (28, 78).

Využití filgrastimu při získání autologního štěpu krvetvorných buněk u nemocných s akutní myeloidní leukémií

O počáteční nedůvěře k podávání filgrastimu u pacientů s AML jsme se již zmínili. Navíc také nepanuje úplná shoda v tom, který pacient s AML by měl být léčen transplantací krvetvorných buněk a který ne, či který nemocný s AML by měl být adeptem transplantace autologní a který alogenní. Jsou případy, kdy rozporů nejsou, je ale mnoho nemocných, u kterých je rozhodování nesnadné (13, 20, 50). Mnohdy není jednoduché ani interpretovat výsledky statistických analýz terapie AML (87).

U dospělých byly v posledních 10 letech publikovány výsledky několika velkých prospektivních studií srovnávajících chemoterapii, autologní a alogenní transplantaci kostní dřeně u pacientů s AML. Šlo o studie skupin The European Organization for Research and Treatment of Cancer – Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (EORTC-GIMEMA), The Groupe Ouest d'études de leucémies Aigues Myeloblastiques (GOLEAM), The Medical Research Council (MRC) a US Intergroup (14, 15, 17, 37, 92).

Ve světle publikovaných dat se zdá, že u pacientů s AML lze filgrastim bezpečně podat jako stimulaci před sběrem autologního štěpu PBSC. Výťažnost takového sběru by měla převýšit výťažnost při odběru kostní dřeně, z čehož by posléze měl pramenit významný prospěch pro pacienta zkrácením období do přihojení krvetvorných buněk po jejich autologní transplantaci, a tedy snížením všech komplikací, které dlouhodobě obnovování krvetvorby provází (11). Lze také předpokládat, že štěp získaný stimulací filgrastimem a odebraný z periferní

krve bude méně kontaminován leukemickými blasty než v případě kostní dřeně. Mobilizace filgrastimem a sběr autologních PBSC je úspěšně prováděn u pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií a nyní častěji i u nemocných s chronickou myeloidní leukémií (45).

O využití filgrastimu při mobilizaci před sběrem autologních PBSC u nemocných s AML v první kompletní remisi nemocí je častěji referováno především v posledních letech. Schiller a kol. (72) provedli sběr periferních krvetvorných buněk u 17 starších pacientů (medián věku 63 let) s AML po konzolidační chemoterapii vysokodávkovaným cytosinarabosidem (2 g/m² každých 12 hodin po dobu 4 dní) a mitoxantronem (10 mg/m² 3 dny), která byla následována denní aplikací filgrastimu v dávce 5 µg/kg. Medián provedených separací byl 5. Celkem bylo získáno 1,18 x 10⁶/kg CD34+ buněk (medián), rozpětí 0,34 – 30,9 x 10⁶/kg. Chemoterapie byla metodou *in vivo* čištění štěpu. Po následné autologní transplantaci po režimu s cyklofosfamidem a celotělovým ozářením dlouhodobě přežívá 53 % nemocných. Dlouhodobě je v celkové remisi AML 41 % nemocných. Výraznější toxicita autologní transplantace byla zaznamenána jen u 3 pacientů, z nichž zemřel jediný. Linker a kol. (50) léčili 128 nemocných s AML, kteří dosáhli první remise po indukci konzolidační chemoterapií vysokodávkovaným cytosinarabosidem (2 g/m² každých 12 hodin po dobu 4 dní) a etoposidem (40 mg/m² 4 dny). Od čtrnáctého dne po zahájení chemoterapie bylo zahájeno podávání filgrastimu v dávce 5 µg/kg/den a byl proveden sběr PBSC. Během konzolidace zemřel 1 pacient. Medián posbíraných CD34+ buněk byl 14 x 10⁶/kg, což mnohonásobně převyšuje výťažnost odběrů krvetvorných buněk z kostní dřeně! Celkem 117 pacientů bylo následně autologně transplantováno. Kalkulované pětileté přežití bez příznaku nemoci je 55 % pro všechny nemocné a dokonce 73 % pro nemocné s příznivou cytogenetikou.

Podobné výsledky jako ukazují tyto práce jsou uvedeny i v dalších publikacích (44, 53, 65, 83). Autologní transplantace PBSC by neměla zhoršovat přežití nemocných s AML ve srovnání s autologní transplantací kostní dřeně (83, 89). Právě naopak (47, 55). PBSC mohou být sbírány už po první konzolidační nebo až v rámci pozdějších konzolidačních chemoterapií. Zdá se, že lepší je varianta druhá. Více konzolidačních chemoterapií má větší antileukemický efekt. Nerandomizované studie naznačují, že dlouhodobě přežití bez příznaku nemoci je v tomto případě zlepšeno a kontaminace štěpů leukemickými buňkami je skutečně menší (11, 55, 58).

Jak už bylo uvedeno, filgrastim lze bezpečně použít u pacientů s AML i k urychlení obnovy krvetvorby po autologní transplantaci krvetvorných buněk. Je-li podáván ode dne +1 po transplantaci či až ode dne +5 není podle všeho rozhodující (3). Kromě filgrastimu je ke stimulaci pacientů s AML užíván i GM-CSF, *stem cell factor* nebo interleukin-3 (11).

Závěr

Podávání filgrastimu nemocným s AML, včetně stimulační aplikace před sběrem autologních PBSC, je bezpečné. Pacientovi s AML by mělo přinášet i prospěch. Výťažnost sběru autologních krvetvorných buněk získaných stimulací filgrastimem převyšuje výťažnost při odběru kostní dřeně. Proto lze očekávat zkrácení období do přihojení krvetvorných buněk po jejich případné autologní transplantaci, a tedy snížení všech komplikací, které dlouhodobě obnovování krvetvorby provází.

Literatura

1. Akbarzadeh, S., Layton, J. E.: Granulocyte colony-stimulating factor receptor: structure and function. *Vit. Hormones*, 63, 2001, s. 159 – 194
2. American Society of Clinical Oncology: American society of clinical oncology recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based, clinical practice guidelines. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, s. 2471 – 2508

3. Azevedo, A. M. de, Nucci, M., Maiolino, A. et al: A randomized, multicenter study of G-CSF starting on day +1 vs day +5 after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 29, 2002, s. 745 – 751
4. Baer, M. R., Christiansen, N. P., Frankel, S. R. et al.: High-dose cytarabine, idarubicin, and granulocyte colony-stimulating factor remission induction therapy for previously untreated *de novo* and secondary adult acute myeloid leukemia. *Semin. Oncol.*, 20, 1993, s. 6 – 12

5. Bennett, C. L., Hynes, D., Godwin, J. et al.: Economic analysis of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) as adjunct therapy for older patients with acute myelogenous leukemia (AML): estimates from a Southwest Oncology Group (SWOG) clinical trial. *Blood*, 92, 1998, suppl. 1, abstrakt 615a
6. Bennett, C. L., Stinson, T. J., Tallman, M. S. et al.: Economic analysis of a randomized placebo-controlled phase III study of granulocyte macrophage colony stimulating factor in adult patients (> 55 to 70 years of age) with acute myelogenous leukemia. *Ann. Oncol.*, 10, 1999, s. 177 – 182
7. Bodey, G. P., Buckley, M., Sathe, Y. S. et al.: Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann. Intern. Med.*, 64, 1966, s. 328 – 340
8. Bolam, S., Hamblin, T.: Colony-stimulating factors in the treatment of older patients with acute myelogenous leukaemia. *Drugs Aging*, 15, 1999, s. 451 – 460
9. Bovolenta, C., Gasperini, S., Cassatella, M. A.: Granulocyte colony-stimulating factor induces the binding of STAT1 and STAT3 to the IFNgamma response region within the promoter of the Fc(gamma)RI/CD64 gene in human neutrophils. *FERS Lett.*, 386, 1996, s. 239 – 242
10. Bronchud, M. H., Potter, M. R., Morgenstern, G. et al.: In vitro and in vivo analysis of the effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients. *Br. J. Cancer*, 58, 1988, s. 64 – 69
11. Bruserud, Ø., Tjønnfjord, G., Gjertsen, B. T. et al.: New strategies in the treatment of acute myelogenous leukemia: mobilization and transplantation of autologous peripheral blood stem cells in adult patients. *Stem Cells*, 18, 2000, s. 343 – 351
12. Büchner, T., Hiddemann, W., Wormann, H. et al.: GM-CSF multiple course priming and long-term administration in newly diagnosed AML. Hematologic and therapeutic effects. *Blood*, 84, 1994, suppl., s. 144a
13. Burnett, A. K.: Current controversies: which patient with acute myeloid leukemia should receive a bone marrow transplantation? – an adult treater's view. *Br. J. Haematol.*, 118, 2002, s. 357 – 364
14. Burnett, A. K., Goldstone, A. H., Stevens, R. et al.: Randomized comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation in intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. *Lancet*, 351, 1998, s. 700 – 708
15. Burnett, A. K., Wheatley, K., Goldstone, A. H. et al.: The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML10 trial. *Br. J. Haematol.*, 118, 2002, s. 1 – 16
16. Carella, A. M., Cascavilla, N., Greco, M. M. et al.: Treatment of „poor risk“ acute myeloid leukemia with fludarabine, cytarabine and G-CSF (Flag regimen): a single center study. *Leuk. Lymphoma*, 40, 2001, s. 295 – 303
17. Cassileth, P. A., Harrington, D. P., Appelbaum, F. et al.: Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *N. Engl. J. Med.*, 339, 1998, s. 1649 – 1656
18. Cebon, J., Layton, J. E., Maher, D., Morstyn, G.: Endogenous haemopoietic growth factors in neutropenia and infection. *Br. J. Haematol.*, 86, 1994, s. 265 – 274
19. 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. Eng. J. Med.*, 325, 1991, s. 164 – 170
20. Creutzig, U., Reinhardt, D.: Current controversies: which patient with acute myeloid leukemia should receive a bone marrow transplantation? – a european view. *Br. J. Haematol.*, 118, 2002, s. 365 – 377
21. Croockewit, A. J., Bronchud, M. H., Aapro, M. S. et al.: A European perspective on haematopoietic growth factors in haemato-oncology: report of an expert meeting of the EORTC. *Eur. J. Cancer*, 33, 1997, s. 1732 – 1746
22. Dombret, H., Chastang, C., Fenaux, P. et al.: A controlled study of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in elderly patients after treatment for acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 332, 1995, s. 1678 – 1683
23. Dong, F., Liu, X., de Koning, J. P. et al.: Stimulation of Stat5 by granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is modulated by two distinct cytoplasmic regions of the G-CSF receptor. *J. Immunol.*, 161, 1998, s. 6503 – 6509
24. Dührsen, U., Villeval, J. L., Boyd, J. et al.: Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood*, 72, 1988, s. 2074 – 2081
25. Estey, E.: Growth factors in acute myeloid leukaemia. *Best Practice Res. Clin. Haematol.*, 14, 2001, s. 175 – 187
26. Estey, E., Plunkett, W., Gandhi, V. et al.: Fludarabine and arabinosyl cytosine therapy of refractory and relapsed acute myelogenous leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 9, 1993, s. 343 – 350
27. Estey, E., Thall, P., Andreeff, M. et al.: Use of granulocyte-colony stimulating factor before, during and after fludarabine plus cytarabine induction therapy of newly diagnosed acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndromes: comparison with fludarabine plus cytarabine without granulocyte colony-stimulating factor. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, s. 671 – 678
28. Ferrara, F., Noto, R. di, Viola, A. et al.: Complete remission in acute myeloid leukaemia with (8;21) following treatment with G-CSF: flow cytometric analysis of in vivo and in vitro effects on cell maturation. *Br. J. Haematol.*, 106, 1999, s. 520 – 523
29. Finley, R. S.: Colony-stimulating factors in acute leukemia: will we ever have an answer? *Ann. Pharmacother.*, 35, 2001, s. 120 – 122
30. Gandhi, V., Du, M., Kantarjian, H. M., Plunkett, W.: Effect of granulocyte macrophage colony-stimulating factor on the metabolism of arabinosyl cytosine triphosphate in blasts during therapy of patients with chronic myelogenous leukemia. *Leukemia*, 8, 1994, s. 1463 – 1468
31. Gandhi, V., Estey, E., Du, M. et al.: Modulation of the cellular metabolism of cytarabine and fludarabine by granulocyte colony-stimulating factor during therapy of acute myelogenous leukemia. *Clin. Cancer Res.*, 1, 1995, s. 169 – 178
32. Geller, R. B.: Use of cytokines in the treatment of acute myelocytic leukemia: a critical review. *Clas Papers Curr Comments*, 7, 2002, s. 222 – 234
33. Gillio, A. P., Bonilla, M. A., Potter, G. K. et al.: Effects of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor on hematopoietic reconstitution after autologous bone marrow transplantation in primates. *Transplant. Proc.*, 19, 1987, s. 153 – 156
34. Giral, S., Escudier, S., Kantarjian, H. et al.: Preliminary results of treatment with filgrastim for relapse of leukemia and myelodysplasia after allogeneic bone marrow transplantation. *N. Engl. J. Med.*, 329, 1993, s. 757 – 761
35. Godwin, J. R., Kopecy, K. J., Head, D. R. et al.: A double blind placebo controlled trial of G-CSF in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group Study. *Blood*, 91, 1998, s. 3607 – 3615
36. Hanazono, Y., Hosoi, T., Kuwaki, T. et al.: Structural analysis of the receptors for granulocyte colony-stimulating factor on neutrophils. *Exp. Hematol.*, 18, 1990, s. 1097 – 1103
37. Harousseau, J. L., Cahn, J. Y., Pignon, B. et al.: Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. *Blood*, 90, 1997, s. 2978 – 2986
38. Harousseau, J. L., Lioure, W. B., Hunaull-Berger, L. M. et al.: Granulocyte colony-stimulating factor after intensive consolidation chemotherapy in acute myeloid leukemia: results of a randomized trial of the Groupe Ouest-Est Leucémies Aigues Myeloblastiques. *J. Clin. Oncol.*, 18, 2000, s. 780 – 787
39. Hermans, P., Franchioly, P., Thioux, C. et al.: Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF [filgrastim]) for treatment of neutropenia in patients with AIDS. *Inf. AIDS Conf.*, 9, 1993, s. 65a
40. Hiddeman, W., Kiehl, M., Zühlsdorf, M. et al.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-3 enhance the incorporation of cytosine arabinoside into the DNA of leukemic blasts and the cytotoxic effects on clonogenic cells from patients with acute myeloid leukemia. *Semin. Oncol.*, 19, 1992, suppl. 1, s. 31 – 37
41. Horwitz, M., Benson, K. F., Person, R. E. et al.: Mutations in ELA2, encoding neutrophil elastase, define a 21-day biological clock in cyclic haematopoiesis. *Nat. Genet.*, 23, 1999, s. 433 – 436
42. Chatta, G. S., Price, T. H., Allen, R. C. et al.: 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*, 84, 1994, 2923 – 2929
43. Johnston, E. M., Crawford, J.: Hematopoietic growth factors in the reduction of chemotherapeutic toxicity. *Semin. Oncol.*, 25, 1998, s. 552 – 561
44. Jowitt, S. N., Chang, J., Morgenstern, G. R. et al.: Factors which affect the CFU-GM content of the peripheral blood haematopoietic progenitor cell harvests in patients with acute myeloid leukemia. *Br. J. Haematol.*, 100, 1998, s. 688 – 694
45. Kantarjian, H. M., Talpaz, M., Hester, J. et al.: Collection of peripheral-blood diploid cells from chronic myelogenous leukemia patients early in the recovery phase from myelosuppression induced by intensive-dose chemotherapy. *Classic Papers Current Comments*, 7, 2002, s. 368 – 374
46. Kern, W., Aul, C., Maschmeyer, G. et al.: Granulocyte colony-stimulating factor shortens duration of critical neutropenia and prolongs disease-free survival after sequential high-dose cytosine arabinoside and mitoxantrone (S-HAM) salvage therapy for refractory and relapsed acute myeloid leukemia. *Ann. Hematol.*, 77, 1998, s. 115 – 122
47. Korbling, M., Flinder, T. M., Holle, R. et al.: Autologous blood stem cell (ABSC) versus purged bone marrow transplantation (pABMT) in standard risk AML: influence of source and cell composition of the autograft on hematopoietic reconstitution and disease-free survival. *Bone Marrow Transplant.*, 7, 1991, s. 343 – 349
48. Larsen, A., Davis, T., Curtis, B. et al.: Expression cloning of a human granulocyte colony-stimulating factor receptor: a structural mosaic of hematopoietin receptor, immunoglobulin, and fibronectin domains. *J. Exp. Med.*, 172, 1990, s. 1559 – 1570
49. Lieschke, G. J., Graill, D., Hodgson, G. et al.: Mice lacking granulocyte colony-stimulating factor have chronic neutropenia, granulocyte and macrophage progenitor cell deficiency, and impaired neutrophil mobilization. *Blood*, 84, 1994, s. 1737 – 1746
50. Linker, Ch. A., Ries, C. A., Damon, L. E. et al.: Autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first remission. *Biol. Blood Marrow Transpl.*, 6, 2000, s. 50 – 57
51. Lord, B. I., Bronchud, M. H., Owens, S. et al.: The kinetics of human granulopoiesis following treatment with granulocyte colony-stimulating factor in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 1989, s. 9499 – 9503
52. Löwenberg, B., Touw, I. T.: Hematopoietic growth factors and their receptors in acute leukemia. *Blood*, 81, 1993, s. 281 – 292
53. Löwenberg, B., van Putten, W. L. J., Ferrant, A. et al.: Peripheral blood progenitor transplantation as an alternative to autologous marrow transplantation in the treatment of acute myeloid leukemia. *Stem Cells.*, 25, 1997, suppl. 1, s. 177 – 181
54. Lyman, G. H., Kuderer, N. M., Balducci, L.: Cost-benefit analysis of granulocyte colony-stimulating factor in the management of elderly cancer patients. *Curr. Opin. Hematol.*, 9, 2002, s. 207 – 214
55. Martin, C., Torres, A., Leon, A. et al.: Autologous peripheral blood stem cell transplantation (PBSC) mobilized with G-CSF in AML in first complete remission. Role of intensification therapy in outcome. *Bone Marrow Transplant.*, 21, 1998, s. 375 – 382

56. Martinelli, G., Testoni, N., Zuffa, E. et al.: FLANG (fludarabine + cytosine arabinoside + novantrone + G-CSF) induces partial remission in lymphoid blast transformation of Ph+ chronic myelogenous leukaemia. *Leuk. Lymphoma*, 22, 1996, s. 173 – 176
57. McKinstry, W. J., Li, C. L., Rasko, J. E. et al.: Cytokine receptor expression on hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*, 89, 1997, s. 65 – 71
58. Miyamoto, T., Nagafuji, K., Harada, M. et al.: Significance of quantitative analysis of AML1/ETO transcripts in peripheral blood stem cells from t(8;21) acute myelogenous leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 25, 1997, s. 69 – 75
59. Morstyn, G., Lieschke, G. J., Cebon, J. et al.: Early clinical trials with colony-stimulating factors. *Cancer Invest.*, 7, 1989, s. 443 – 456
60. Ogata, K., An, E., Kamikubo, K. et al.: Repeated cycles of G-CSF-combined postremission chemotherapy for acute myeloid leukemia in a first complete remission: a pilot study. *Stem Cells*, 16, 1998, s. 280 – 287
61. Ogawa, M.: Effects of hemopoietic growth factors on stem cells in vitro. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.*, 3, 1989, s. 453 – 464
62. Ohno, R., Naoe, T., Kanamaru, A. et al.: A double-blind controlled study of granulocyte colony-stimulating factor after intensive induction therapy in refractory acute myeloid leukemia. *Blood*, 83, 1994, s. 2086 – 2092
63. Ohno, R., Tomonaga, M., Kobayashi, T. et al.: Effect of granulocyte colony-stimulating factor after intensive induction chemotherapy in refractory acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 323, 1990, s. 871 – 877
64. Ozer, H., Armitage, J. O., Bennett, Ch. L. et al.: 2000 update of recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based, clinical practice guidelines. *J. Clin. Oncol.*, 18, 2000, s. 3558 – 3585
65. Pavlovsky, S., Fernandez, I., Milone, G. et al.: Autologous peripheral blood progenitor cell transplantation mobilized with high-dose cytarabine in acute myeloid leukemia in first complete remission. *Ann. Oncol.*, 9, 1998, s. 151 – 157
66. Robak, T., Wrzesień-Kuś, A., Lech-Marañá, E. et al.: Combination regimen of cladribine (2-chlordeoxyadenosine), cytarabine and G-CSF (CLAG) as induction therapy for patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 39, 2000, s. 121 – 129
67. Rosen, R. B., Kang, S. J.: Congenital agranulocytosis terminating in acute myelomonocytic leukemia. *J. Pediatr.*, 94, 1979, s. 406 – 408
68. Rowe, J. M., Andersen, J., Mazza, J. J. et al.: A randomized placebo-controlled study of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adult patients (>55 – 70 years of age) with acute myelogenous leukemia (AML): a study of the Eastern Cooperative Oncology Group (E1490). *Blood*, 86, 1995, s. 457 – 462
69. Rubia, J. de la, Regadera, A. I., Martín, G. et al.: FLAG-IDA regimen (fludarabine, cytarabine, idarubicin and G-CSF) in the treatment of patients with high-risk myeloid malignancies. *Leuk. Res.*, 26, 2002, s. 725 – 730
70. Sheridan, W., Begley, G., Juttner, C. et al.: Effect of different doses and schedules of r-metHuG-CSF (filgrastim) on mononuclear cell and PBPC collections and haematopoietic recovery after high dose chemotherapy (HDC) and infusion of r-metHuG-CSF mobilized peripheral blood progenitor cells (PBPC) without bone marrow. *Blood*, 80, 1992, suppl. 1, s. 331a
71. Schiffer, C. A.: Hematopoietic growth factors as adjuncts to the treatment of acute myeloid leukemia. *Blood*, 88, 1996, s. 3675 – 3685
72. Schiller, G., Lee, M., Paquette, R. et al.: Transplantation of autologous peripheral blood progenitor cells procured after high-dose cytarabine-based consolidation chemotherapy for adults with secondary acute myelogenous leukemia in first remission. *Leuk. Lymphoma*, 33, 1999, s. 475 – 484
73. Schwinger, W., Mache, C., Urban, C. et al.: Single dose of filgrastim (rhG-CSF) increases the number of hemopoietic progenitors in the peripheral blood of adult volunteers. *Bone Marrow Transplant.*, 11, 1993, s. 489 – 492
74. Souza, L. M., Boone, T. C., Gabilove, J. et al.: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science*, 232, 1986, s. 61 – 65
75. Spiekermann, K., Roesler, J., Emmendoerffer, A. et al.: Functional features of neutrophils induced by G-CSF and GM-CSF treatment: differential effects and clinical implications. *Leukemia*, 11, 1997, s. 466 – 478
76. Starr, R., Hilton, D. J.: Negative regulations of the JAK/STAT pathways. *Bioessays*, 21, 1999, s. 47 – 52
77. Stone, R. M., Berg, D. T., George, S. L. et al.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after initial chemotherapy for elderly patients with primary acute myelogenous leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 332, 1995, s. 1671 – 1677
78. Takamatsu, Y., Miyamoto, T., Iwasaky, H. et al.: Remission induction by granulocyte colony-stimulating factor in hypoplastic acute myelogenous leukemia complicated by infection: a case report and review of the literature. *Acta Haematol.*, 99, 1998, s. 224 – 230
79. Terpstra, W., Löwenberg, B.: Application of myeloid growth factors in the treatment of acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 11, 1997, s. 315 – 327
80. Ulrich, T. R., del Castillo, J., Souza, L.: Kinetics and mechanisms of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor-induced neutrophilia. *Am. J. Pathol.*, 133, 1988, s. 630 – 638
81. Usuki, K., Iki, S., Endo, M. et al.: Granulocyte colony-stimulating factor in acute myeloid leukemia. *Stem Cells*, 13, 1995, s. 647 – 654
82. Usuki, K., Urabe, A., Masaoka, T. et al.: Efficacy of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of acute myelogenous leukaemia: a multicentre randomized study. *Br. J. Haematol.*, 116, 2002, s. 103 – 112
83. Visani, G., Lemoli, G. M., Tosi, P. et al.: Use of peripheral blood stem cells for autologous transplantation in acute myeloid leukemia allows faster engraftment and equivalent disease-free survival compared with bone marrow. *Bone Marrow Transplant.*, 24, 1999, s. 467 – 472
84. Ward, A. C., van Aesch, Y. M., Gits, J. et al.: Novel point mutation in the extracellular domain of the granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) receptor in a case of severe congenital neutropenia hyporesponsive to G-CSF treatment. *J. Exp. Med.*, 190, 1999, s. 497 – 507
85. Weisbart, R. H., Golde, D. W.: Physiology of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors in host defense. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 3, 1989, s. 401 – 409
86. Welte, K., Gabilove, J., Bronchud, M. et al.: Filgrastim (r-metHuG-CSF): the first 10 years. *Blood*, 88, 1996, s. 1907 – 1929
87. Wheatley, K.: Current controversies: which patient with acute myeloid leukemia should receive a bone marrow transplantation? – a statistician's view. *Br. J. Haematol.*, 118, 2002, s. 351 – 356
88. Witz, F., Harousseau, J. L., Cahn, J. Y. et al.: GM-CSF during and after remission induction treatment for elderly patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood*, 84, 1994, suppl., s. 231a
89. Witte, T. de, Keating, S., Suci, S. et al.: A randomized comparison of the value of autologous BMT versus autologous PSCT for patients with AML in first CR in the AML 10 trial of the EORTC LCG and GIMEMA. *Blood*, 98, 2001, suppl., s. 859a
90. Young, J. D., Cheung, E. N., Tanaka, H. et al.: Bioavailability of subcutaneously administered non-glycosylated recombinant hG-CSF (filgrastim) in normal and neutropenic rats and humans. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 13, 1994, s. 162 – 168
91. Zittoun, R. A., Mandelli, F., de Witte, T. et al.: Recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) during induction treatment of acute myelogenous leukemia (AML). A randomized trial from EORTC-GIMEMA leukemia cooperative groups. *Blood*, 84, 1994, suppl., s. 231a
92. Zittoun, R. A., Mandelli, F., Willemze, R. et al.: Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. *N. Engl. J. Med.*, 332, 1995, s. 217 – 223
93. Zittoun, R. A., Suci, S., Mandelli, F. et al.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor associated with induction treatment of acute myelogenous leukemia: a randomized trial by the European Organization for Research and Treatment of Cancer Leukemia Cooperative Group. *J. Clin. Oncol.*, 14, 1996, s. 2150 – 2159