

MOBILIZACE KMENOVÝCH BUNĚK KRVETVORBY U NEMOCNÝCH SE ZHOUBNÝMI NÁDORY VARLAT PŘED PLÁNOVANOU LÉČBOU VYSOKÝMI DÁVKAMI CHEMOTERAPIE

MOBILIZATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS IN PATIENTS WITH TESTICULAR CANCER BEFORE HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY

CETKOVSKÝ P., SCHÜTZOVÁ M., JINDRA P., ŠKOPEK P., PITTROVÁ H., VOZOBULOVÁ V., ŠVOJGROVÁ M., NAVRÁTILOVÁ J., LYSÁK D., VOKURKA S., FIŠER J., ČERNÁ K., KARAS M., KOZA V.

HEMATOLOGICKO-ONKOLOGICKÉ ODDĚLENÍ, FAKULTNÍ NEMOCNICE, PLZEŇ

Souhrn: *Východiska:* Po léčbě opakovanými cykly chemoterapie, které rovněž obsahují léky toxické pro kmenové buňky krvetvorby (HSC), může dojít k tomu, že se nepodaří získat dostatečné množství HSC. Proto je praktické nastřádat HSC dříve, nežli jsou nemocným tyto cytotoxické léky (včetně cis-platiny) opakovaně podávány. *Typ studie a soubor:* Do analýzy bylo zařazeno 11 nemocných s testikulárními nádory, 3 s relapsem a 8 v partiální remisi, kteří podle mobilizačního postupu byli rozděleni do tří skupin. U 3 pacientů ve skupině I. (Skup.I.) byly HSC získávány po 3 cyklech záchranné léčby (obsahující též cis-platinu) a G-CSF, u 3 pacientů ze Skup.II. byl před sklizní HSC aplikován cyklofosfamid ($3\text{g}/\text{m}^2$) + G-CSF a u 5 nemocných ze Skup.III. střádání HSC probíhalo již po 1. cyklu záchranné léčby + G-CSF. *Metody a výsledky:* Ve Skup.I. Bylo získáno jen nedostatečné množství CD 34+ buněk (1.63×10^6 CD 34+ buněk/kg v průběhu 5 aferéz) a bylo nutno provést odběr kostní dřeně (nebo remobilizaci). Ve Skup.II. bylo dosaženo slušných výsledků (4.54×10^6 CD 34+ buněk/kg během 3 aferéz), ale vzhledem k možnému zkrácení skutečného účinku léčby 2. řady, a tím i narušení léčebných protokolů, byl tento postup rovněž opuštěn. Ve Skup. III. bylo nastřádáno 8.8×10^6 CD34+ buněk/kg při 2 aferézách. *Závěry:* U nemocných s relabujícími nádory varlat (či v partiální remisi) lze využít první cyklus léčebné „záchranné“ kombinace jako mobilizační protokol. Tento postup vede k získání dostatečného množství CD 34+ buněk, a to dříve, než následkem opakované aplikace cis-platiny není možné potřebný počet HSC nastřádat.

Klíčová slova: mobilizace kmenových buněk krvetvorby - zhoubné nádory varlat - autologní transplantace kmenových buněk krvetvorby - vysoké dávky chemoterapie - granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) - cis-platina

Summary: Background: Following repeated courses of stem cell-toxic chemotherapy, mobilization of hematopoietic stem cells (HSC) appears to be decreased. For these reasons, HSC should be harvested prior to repeated HSC exposure to stem cell-toxic drugs. *Design and Subjects:* 11 patients with testicular cancer (3 in relapse and 8 with partial response) were included into analysis and according to mobilization protocol they were divided into 3 groups. HSC from 3 patients (pts) in group I (Gr.I.) were harvested after 3 cycles of cis-platin-based salvage chemotherapy (+ G-CSF), in 3 pts from Gr.II. HSC harvesting was performed after cyclophosphamide ($3\text{g}/\text{m}^2$) plus G-CSF, and for HSC mobilization in 5 pts from Gr.III. The first cycle of „salvage“ chemotherapy (+ G-CSF) was used. *Methods and Results:* In pts from Gr.I., only a small number of CD34+ cells (1.63×10^6 CD 34+cells/kg during 5 aphereses) was harvested and bone marrow harvesting (or remobilization) was necessary. In patients from Gr.II., successful harvestings were carried out (4.54×10^6 CD34+cells/kg during 3 aphereses), but due to possible violation of standard salvage protocols we stopped this method. In pts from Gr.III. 8.8×10^6 CD34+ cells/kg were harvested during 2 aphereses. *Conclusions:* Harvesting of a sufficient number of CD 34+ cells in pts with relapsed or partially responsive testicular tumors after the first cycle of disease-specific cis-platin-based salvage therapy, before HSC are compromised because of stem cell-toxic chemotherapy, seems to be a practical approach.

Key words: mobilization of hematopoietic stem cells - testicular cancer - autologous hematopoietic stem cell transplantation - high-dose chemotherapy - stem cell-toxic chemotherapy - cis-platinum

Úvod

Objevem kombinované chemoterapie se germinativní nádory varlat, které do té doby téměř vždy končily rychlým umrtvím nemocných, staly modelovou situací, demonstrující úspěšnou léčbu zhoubných nemocí cytostatiky (11). U 70-80 % nemocných s diseminovanou nemocí se tímto léčebným postupem dosáhne kompletní remise (CR) a dlouhodobého přežití bez nemoci. Zbývajících 20-30 % nemocných s rezistentním nádorem by bez další léčby rychle zemřelo na progresi tumoru. Vzhledem k tomu, že „záchranná“ (salvage) léčba v běžných dávkách navodí dlouhodobou CR jen u velmi malého počtu pacientů (u 20-30 % z refrakterních nemocných, tedy u dalších 6-10 % všech nemocných - 4, 16), tak u zbývajících přibližně 20 % pacientů je (při použití konvenční chemoterapie) tato choroba považována za nevléčitelnou (16). Účinná léčba nemocných s diseminovanou chorobou refrakterní na běžné dávky cytostatik je intenzivně hledána. Poměrně slušných

výsledků bylo dosaženo použitím vysokých dávek chemoterapie (high-dose chemotherapy: HDCH) s následnou autologní transplantací kmenových (a progenitorových) buněk krvetvorby (blood stem cells - BSC), kdy dlouhodobá CR byla navozena až u 25-50 % nemocných (4, 6, 10, 15, 18-19), nemajících jinak velkou šanci na přežití. Tento postup, který v ideálním případě má zničit nádor, vychází z experimentálně i klinicky ověřené koncepce tzv. *dose intensity*: vyšší dávka má větší léčebný účinek, a proto HDCH může být úspěšná tedy i u nádoru rezistentního na běžné dávky cytostatik. Supraleitná hematologickou toxicitu těchto myeloablativních protokolů lze obejít tak, že BSC, získané z kostní dřeně či periferní krve, se ještě před podáním agresivní chemoterapie odeberou, kryokonzervují a po aplikaci HDCH vrátí nemocnému. V současnosti při HDCH se jako zdroje BSC v naprosté většině používají tzv. periferní BSC (PBSC). K vyplavení BSC i progenitorových buněk, označovaných též souhrnně jako CD

34+ buněk (nesou totiž na svém povrchu antigen CD 34), z kostní dřeně se provádí tzv. mobilizace, buď podáváním cytokinů (nejčastěji granulocyte colony-stimulating factor: G-CSF) či aplikací kombinace chemoterapie a cytokinu. Odběr kostní dřeně se provádí často jen v případech, kdy nelze buňky z kostní dřeně mobilizovat do periferní krve. Transplantace PBSC (PBST), v porovnání s transplantací kostní dřeně, vede k rychlejšímu přijetí štěpu (tzv. engraftment) a k normalizaci leukocytů dochází již za 8-10 dní a trombocytů za 10-12 dní po PBST (1-2, 5, 7). Jako optimální množství, které zaručí takto rychlou rekonstituci hematopoiezy, se doporučuje transplantovat nejméně $2.5 - 5 \times 10^6$ CD 34+ buněk na kilogram hmotnosti příjemce (1,5).

Existují však faktory, které způsobují, že nelze získat dostatečný počet CD 34+ buněk, nutných pro „bezpečnou“ PBST. Mnohé studie prokázaly, že špatnou mobilizovatelnost CD 34+ buněk z kostní dřeně do periferní krve nejčastěji způsobuje: 1. opakovaná předchozí kombinovaná chemoterapie, 2. i krátkodobá aplikace některých cytostatik: především alkylačních látek, např. BCNU, melphalan, chlorambucil, ale i např. deriváty platiny, atd., 3. vliv dalších faktorů, např. radioterapie v anamnéze, věk nad 50 let, postižení kostní dřeně nádorovým onemocněním, apod. (2-3, 12, 14, 17, 20).

Vzhledem k tomu, že opakované cykly chemoterapie mohou znemožnit získání dostatečného množství CD 34+ buněk, tak je nutno na HDCH a PBST myslet od samého počátku a léčebný plán pacienta vystavět i s ohledem na možnou budoucí aplikaci HDCH s PBST. To znamená nejen nepodávat určitá cytostatika, ale navíc se pokusit získat optimální počet CD 34+ buněk, nutných k provedení PBST, jak nejdříve to jde, často již po prvním cyklu standardně dávkovaných cytostatik. Obvykle není třeba aplikovat zvláštní, tzv. mobilizační protokoly (nejběžněji se používají vysoké dávky cyklofosfamidů: CPA), ale k vyplavení CD34+ buněk se může použít běžně podávaná léčebná kombinace cytostatik (tzv. disease-specific therapy), po níž následuje aplikace cytokinu (např. G-CSF). Tento postup má výhodu v tom, že se jedná o vyzkoušenou a účinnou léčbu. Naopak, použití tzv. speciálních mobilizačních schémat (např. CPA), nemusí být u příslušného nádoru tím nejúčinnějším postupem.

Cíl práce: V tomto sdělení uvádíme naše první zkušenosti s mobilizací PBSC u nemocných s germinativními nádory varlat a popisujeme, jak se vyvíjel náš postup po neúspěšných mobilizacích na počátku, které byly prováděny po několika chemoterapeutických cyklech. Opakované neúspěšné pokusy nasbírat optimální množství CD 34+ buněk nás přivedly k tomu, že jsme „sklizeň“ PBSC začali provádět již po prvním cyklu „záchranné“ léčby.

Soubor nemocných a metodika

V období od února 1994 do června 1998 bylo do sledování zahrnuto 11 nemocných s germinativními nádory varlat (histologické typy a další bližší charakteristiku nemocných ukazuje Tab.1). Dle Indiana klasifikace měli 4 nemocní minimální stadium (1. pouze zvýšenou hladinu HCG a/nebo AFP, 2. postižení krčních uzlin + přítomnost hmatné retroperitoneální nemoci, 3. neresekovatelné a nehmátne retroperitoneální postižení, 4. méně než 5 plicních metastáz s největším průměrem menším než 2 cm + nehmátne postižení retroperitonea), 3 nemocní byli v tzv. středním (moderate) stadiu (5. hmatné abdominální postižení, 6 plicní metastázy v počtu 5-10 v plicním poli s největším průměrem menším než 3 cm nebo postižení mediastina nepřesahující 50 % intrathorakálního průměru nebo solitární plicní metastáza jakékoliv velikosti větší než 2 cm v průměru), 4 pacienti měli pokročilou (advanced) nemoc (7. pokročilé plicní postižení: mediastinální hmoty zasahující více než 50 % intrathorakálního průměru nebo více než 10 plicních metastáz v plicním poli či mnohotné plicní metastázy větší než 3 cm v průměru, 8. hmatné abdominální postižení s jakýmkoliv plicím postižením, 9. metastázy v CNS, játrech či kostech).

3 nemocní byli léčeni pro recidivu nemoci, 8 pro dosažení pouze částečné odpovědi na léčbu 1. linie (tzv. partial response: zmenšení všech měřitelných známek nemoci o 50 % či více a současně žádná progresse jakéhokoliv známého ložiska, dalším předpokladem je, že se nesmí objevit žádné nové postižení). Tato terapie 1. řady (s výjimkou 2 mohutně předléčených nemocných - viz Tab.1) sestávala z kombinace PEB: cis-platina 20 mg/m² 1.-5.den, etoposid 100 mg/m² 1.-5.den, bleomycin 15 mg/m² v den 1, 8 a 15. U nemocných byla provedena „záchranná“ chemoterapie 2. řady: -VeIP: cis-platina 20 mg/m² 1.-5.den, ifosfamid 1200 mg/m² 1.-5.den, vinblastin 0.11 mg/kg 1.+2.den (1 nemocný byl léčen protokolem PEI: cis-platina a ifosfamid ve stejných dnech a dávkách, místo vinblastinu se podával etoposid 75 mg/m² 1.-5.den). Aplikace cytostatik byla ukončena 5. den, od 6. dne bylo zahájeno subkutánní podávání G-CSF (10 µg/kg/den). Od 5. dne aplikace (11. den od začátku chemoterapie) bylo započato měření cirkulujících CD 34+ buněk. Při nálezů více než 10 CD 34+ buněk v mikrolitru (a byla-li současně hodnota leukocytů vyšší než $1.0 \times 10^9/l$ a trombocytů než $20 \times 10^9/l$), byla provedena 1. aferéza.

Pro analýzu byli nemocní rozděleni do tří skupin: ve skupině I. jsou zahrnuti 3 pacienti, u nichž byla „sklizeň“ prováděna až po 3. cyklu „záchranné“ kombinované chemoterapie (s následnou aplikací G-CSF 10 µg/kg/den). Jedná se o pacienty, u nichž nebylo možno nasbírat dostatečné množství CD 34+ buněk, a proto u 2 z nich (aby bylo možno podat HDCH) byla odebrána kostní dřeň. U zbývajících pacientů byla provedena úspěšná opakovaná mobilizace (remobilizace) vyšší dávkou G-CSF (16 µg/kg/den). Vzhledem k těmto negativním zkušenostem byla u dalších 3 nemocných, označovaných v této studii jako skupina II., před podáním salvage chemoterapie, provedena mobilizace speciálním mobilizačním protokolem. K vyplavení CD 34+ buněk byl použit kombinovaný postup: aplikace vysoké dávky CPA (3g/m²) s následným podáváním G-CSF 10 µg/kg/den (13). Avšak ani toto se nám nejevilo jako ideální, neboť léčba vysokými dávkami CPA není některými nemocnými dobře snášena, neboť podání komplikuje především gastrointestinální toxicita a myelotoxicita. Nejvýznamnějším argumentem proti tomuto postupu je skutečnost, že účinkem CPA by mohlo dojít ke zkrácení skutečného efektu léčby 2. řady (a tím k modifikaci probíhajících studií). Proto u dalších 5 nemocných (skupina III.) bylo využito, stejně jako u skupiny I, mobilizačního efektu tzv. disease-specific therapy „záchranného“ protokolu VeIP, ale aferézy byly provedeny již po 1. cyklu této chemoterapie. Střádání CD 34+ buněk se zahájilo tedy dříve než se stačil plně projevit toxický účinek cytostatik (především cis-platiny) na kmenové a progenitorové buňky (a rovněž na mikroprostředí v kostní dřeni). Tento postup (střádat PBSC i u onemocnění, které ještě není v remisi) je možný i proto, že kostní dřeň u tohoto druhu zhoubného onemocnění bývá (i při jinak rozsáhlém postižení) infiltrována v méně než 1 % případů (u našich nemocných při vstupním vyšetření, jehož součástí je i provedení trepanobiopsie z lopaty kosti kyčelní, nebyly maligní karcinomové buňky v kostní dřeni nalezeny u žádného muže). Navíc vliv nádorových buněk, obsažených v transplantátu, na recidivu tumoru není objasněn, neboť nejčastější příčinou recidivy základního onemocnění není tato nádorová kontaminace transplantátu, ale nedostatečná eradikace primárního nádoru málo účinnou indukční léčbou. „Záchranná“ léčba byla, po 3 cyklech standardně dávkované chemoterapie, u nemocných dokončena podáním HDCH ve složení: karboplatina (2200 mg/m²), etoposid (1800 mg/m²) a cyklofosfamid (6400 mg/m²) s podporou provedením PBST (6,10,15).

Všem nemocným byl zaveden centrální žilní dvojluminální dialyzační katétr cestou vena subclavia. Aferézy byly prováděny na přístroji Baxter CS 3000 Plus, během každého sezení bylo přístrojem zpracováno 20 000 mililitrů krve. Měření CD 34+ buněk bylo prováděno prostřednictvím dvoubarevné prů-

Tabulka 1. Charakteristika všech pacientů

Skupina	Věk	Diagnóza	Předchozí léčby	Stadium	Důvod	Druh	Odpověď	Mobilizace	Dřeň	Pozn.
I.	29	Embryo.Ca	CH, RT, PEB 4x, EAM 3x, VAB 6 3x	Moderate	Relaps	VeIP 3x	CR	2.8x10/8 NC	Ano	CR – 56 měs.
	41	Seminom	CH, RT, PEB 3x	Minimal	Relaps	VeIP 3x	CR	0.7x10/6 CD 34	Ano	CR – 46 měs.
	39	Seminom + EmbryoCa	PEB 4x	Advanced	PR	VeIP 3x	PR	1.4x10/6 CD 34	Ne	R, E v CR
II.	31	Seminom	PEB 4x	Minimal	PR	VeIP 3x	CR	6.0x10/6 CD 34	Ne	CR – 24 měs.
	40	ChorioCa	PEB 4x	Advanced	PR	VeIP 3x	CR	4.6x10/6 CD 34	Ne	CR – 24 měs.
	25	EmbryoCa + YoloSac	PEB 4x	Advanced	PR	VeIP 3x	CR	3.0x10/6 CD 34	Ne	CR – 26 měs.
III.	31	Seminom	PEB 4x	Moderate	PR	VeIP 3x	PR	6.1x10/6 CD 34	Ne	E, progresse
	28	EmbryoCa + TeratoCa	CH, PEB 4x, RT, VeIP 4x, VAB6 3x	Advanced	Relaps	PEI 3x	TRM	9.0x10/6 CD 34	Ne	E
	24	EmbryoCa	PEB 4x	Minimal	PR	VeIP 3x	CR	9.3x10/6 CD 34	Ne	CR – 22 měs.
	33	Seminom + EmbryoCa	PEB 4x	Moderate	PR	VeIP 3x	CR	11.7x10/6 CD 34	Ne	CR – 3 měs.
	42	Seminom	PEB 4x	Minimal	PR	VeIP 3x	CR	8.1x10/6 CD 34	Ne	0

Vysvětlivky:

EmbryoCa - embryonální karcinom
Yolk sac - nádory žlutkového vaku
ChorioCa - choriokarcinom
CH - chirurgická léčba (cytoredukce)
RT - aktinoterapie
CR - kompletní odpověď
PR - částečná odpověď
TRM - úmrtí v důsledku léčby
NC - počet nukleárních buněk na kilogram hmotnosti nemocného
CD 34+ - množství CD 34+ buněk na kilogram hmotnosti
Dřeň - Ano - proveden odběr kostní dřeně
Dřeň - Ne - neproveden odběr kostní dřeně
R - remobilizace
E - exitus
0 - vysocedávkovaná chemoterapie zatím neprovedena
Druh - druh (typ) „záchranné“ léčby
Důvod - důvod, proč „záchranná“ léčba podávána
Stadium - dle INDIANA klasifikace (viz text)
Věk - udáván v letech

PEB cis-platina 20 mg/m²: 1.-5. den
etoposid 100 mg/m²: 1.-5. den
bleomycin 15 mg/m²: 1., 8. + 15. den
VeIP cis-platina 20 mg/m²: 1.-5. den
ifosfamid 1200 mg/m²: 1.-5. den
vinblastin 0.11 mg/kg: 1., 2. den
PEI cis-platina 20 mg/m²: 1.-5. den
ifosfamid 1200 mg/m²: 1.-5. den
etoposid 75 mg/m²: 1.-5. den
EAM etoposid 150 mg/m²: 1.-3. den
dactinomycin 2 mg: 1. den
methotrexat 50 mg/m²: 1. den
VAB6 cyklofosfamid 600 mg/m²: 1. den
bleomycin 15 mg/m²: 1.-3. den
vinblastin 0,11 mg/kg: 1., 2. den
cis-platina 120 mg/m²: 4. den

tokové cytometrie (na přístroji Coulter Epics XL, Coulter Corporation, Hialeah, FL, USA) za využití přímo značené PE - konjugované monoklonální protilátky (HPCA-2, Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) proti CD 34 antigenu a FITC - konjugované monoklonální protilátky proti CD 45 (immunotech, Marseille, France) dle doporučení ISHAGE.

Výsledky

Podrobné údaje jsou uvedeny v Tab.1.

Od nemocných ze skupiny I (sklizených po 3 cyklech „záchranné“ chemoterapie) bylo získáno 1.63x10⁶ CD 34+ buněk /kg (0.67-2.78), k obstarání tohoto množství bylo průměrně zapotřebí 5 aferéz (3-7), které byly započaty v den 7 (6 - 10) od zahájení aplikace G-CSF, t.j. v den 12 (11 - 15) od startu „záchranného“ protokolu. Ve skupině II (CPA s G-CSF) byly výtěžky velmi dobré: 4.54x10⁶ CD 34+ buněk /kg (3.0 - 6.02), bylo nutno provést průměrně 3 aferézy (2-6), které byly započaty v den 6 (5 - 7) od počátku aplikace G-CSF. Největších výtěžků však bylo docíleno ve skupině III (nyní používaným postupem: „sklizní“ PBSC po 1. cyklu „salvage“ chemoterapie a po aplikaci G-CSF): 8.8x10⁶ CD34+ buněk/kg (6.1-11.7). Průměrně byly CD 34+ buňky nastřádány v průběhu 2 sezení (1-4), sklizení bylo započato v den 7 (6 - 8) od zahájení aplikace G-CSF, t.j. v den 12 (11 - 13) od startu chemoterapie 2.řady. Výhodou tohoto postupu je rovněž fakt, že u žádného pacienta se nevyskytly projevy významnější hematologické či nehematologické toxicity, neboť se jedná o běžný protokol, který se může podávat ambulantně. Naopak, po aplikaci vysokých dávek CPA dochází běžně k projevům hematologické i nehematologické toxicity. Toto se potvrdilo i u všech nemocných ve skupině II.: hodnoty leukocytů alespoň na jeden den poklesly pod

1.0x10⁹/l a trombocytů pod 20x10⁹/l. U jednoho nemocného se rovněž objevil febrilní stav, pro který bylo nutno podávat kombinaci širokospektrých antibiotik.

Diskuse

Při léčbě některých zhoubných nádorů včetně germinativních tumorů varlat je v posledních letech převládajícím trendem provádět HDCH a PBSCT dříve než dojde ke vzniku refrakterního onemocnění. Tento léčebný postup se může aplikovat jednak u nemocných s relapsem nemoci jako součást „záchranné“ léčby. Další možností je použít HDCH u pacientů s některými vstupně prognosticky nepříznivými parametry již dokonce v samotném úvodu terapie (up-front therapy) (10). Zřejmě nejčastější indikací HDCH je její užití u těch pacientů s germinativními nádory varlat, kteří neodpoví optimálně na konvenčně dávkovanou úvodní léčbu a u nichž standardně dávkovanou terapií není dosaženo kompletní, ale pouze jen parciální odpovědi.

Předpokladem aplikace cytostatik v množstvích blížících se maximálně tolerovaným dávkám a způsobujících následkem letální hematologické toxicity až myeloablaci, je úspěšný odběr dostatečného množství PBSC s jejich následnou kryokonzervací v dostatečném předstihu před HDCH. Důvodem transplantace PBSC po HDCH je urychlení obnovení hematopoese, které vede ke zkrácení doby těžké dřeňové aplázie z několika týdnů na 8 i méně dní (1,5,7). Na HDCH je nutno myslet již od první rozvahy o terapii, neboť jsou-li pacienti při použití „salvage“ léčebných protokolů vystaveni působení léků poškozujících kmenové a progenitorové buňky, jako je cis-platina (nebo například BCNU, melphalan či chlorambucil u nemocných s hematologickými malignitami), tak může dojít

k tomu, že již nikdy nepůjde získat dostatečné množství CD 34+ buněk (1-3,8-9,12,17,20). Aby tedy nebyl tento léčebný postup ohrožen, měly by být PBSC získány dříve, než jsou tyto léky nemocným, většinou v opakovaných cyklech chemoterapie, podány.

To se potvrdilo i v naší praxi, neboť u třech pacientů ve skupině I., kterým v posledních 3 měsících před střádáním PBSC bylo aplikováno nejméně 60 mg/m² cis-platiny, se nepodařilo získat optimální množství PBSC. Proto bylo nutno změnit strategii. U nemocných ze skupiny II. jsme použili speciální mobilizační protokol: CPA s G-CSF, a dosáhli jsme slušných výsledků. Nevýhodou tohoto postupu však bylo možné zkrácení skutečného účinku chemoterapie 2. řady a tím i narušení léčebných protokolů, v nichž je aplikace jiných cytostatik důvodem k vyloučení nemocného ze sledování. Protože kostní dřev je u nemocných s testikulárními nádory postižena jen velmi vzácně (méně než v 1% případů), tak jsme počali „sklízet“ CD 34+ buňky ihned po 1. cyklu „záchranné“ terapie. Ukázalo se, že se jedná o účinný postup, jehož výhodou je možnost poměrně spolehlivě předpovědět začátek aferéz, což je důležité z organizačních důvodů.

Významný je rovněž časový interval, který uplyne od poslední chemoterapie (9,20). Je-li totiž získávání PBSC prováděno časně po cytostatické léčbě, tak téměř jistý neúspěch je způsoben především tím, že počet progenitorů (jak nezralých, tak i zadaných) je výrazně zredukován. Toto však nemusí být setrvalý stav, neboť v časovém odstupu mnoha měsíců (období

dvou měsíců je považováno za příliš krátké - 9) se odběr dostatečného množství PBSC může podařit i v případě, že tento nemocný byl v dávné minulosti vystaven aplikaci těchto medikamentů. Tato situace se rovněž vyskytla v našem souboru u mohutně předléčeného nemocného ze skupiny III, u kterého byla rok dlouhá pauza mezi poslední chemoterapií obsahující cis-platinu a střádáním CD 34+ buněk. Avšak u pacientů s aktivním zhoubným onemocněním nelze čekat mnoho měsíců na okamžik, kdy dojde k odeznění negativního účinku cis-platiny a proto se jako nejvhodnější jeví provádět „sklizeň“ PBSC jak nejdříve to lze uskutečnit.

Závěr

V současné době ve světě probíhá více randomizovaných studií, zkoumajících úlohu HDCH a PBSCT v léčbě germinativních nádorů varlat. Několik českých pracovišť se účastní studie označované IT-94, která je koordinována Pracovní skupinou pro solidní nádory při Evropské společnosti pro transplantaci krve a kostní dřevě (EBMT - European Group for Blood and Marrow Transplantation, Solid Tumors Working Party) (6). Počty nemocných léčených HDCH s PBSCT tedy budou zřejmě stoupat, a proto se domníváme, že naše zkušenost, byť zatím bohužel limitována nízkým počtem zařazených pacientů, bude využitelná i ostatními centry aplikujícími HDCH.

Práce byla částečně podporována grantem IGA MZd ČR

Literatura

1. Bensinger, W.I., Longin, K., Appelbaum, F. et al.: Peripheral blood stem cells (pbcs) collected after recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rhg-CSF): An analysis of factors correlating with the tempo of engraftment after transplantation. *Br.J.Haematol.*, 89, 1995, s. 689-690.
2. Bensinger, W.I., Appelbaum, F., Rowley, S. Et al.: Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. *J.Clin.Oncol.*, 13, 1995, s. 2547-2555.
3. Botnick, L.E., Hannon, E.C., Vigneulle, R. et al.: Differential effects of cytotoxic agents on hematopoietic progenitors. *Cancer Res.*, 41, 1981, s. 2338-2343.
4. Broun E.R., Nichols C.R., Tricot G. Et al.: High dose carboplatin/VP-16 plus ifosfamide with autologous bone marrow support in the treatment of refractory germ cell tumors. *Bone Marrow Transplant.*, 7, 1991, 53-56.
5. Byrne, J.L., Haysen, A.P., Russel, N.H.: Use of haematopoietic growth factors: commentary on the ASCO/ECOG guidelines. *Blood Reviews* 11, 1997, s. 16-27.
6. Cetkovský, P., Koza, V., Jindra P. et al.: Vysoké dávky chemoterapie s transplantací autologních kmenových buněk v léčbě nemocných ze zhoubnými nádory varlat: popis případu, současné názory na tento druh léčby a nabídka spolupráce v rámci Evropské skupiny pro transplantace kostní dřevě (EBMT). *Klin.Onkologie*, 6, 1994, s. 175-179.
7. Cetkovský, P., Koza, V., Jindra, P. et al.: Individual criteria could be optimal for starting G-CSF application after autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 20, 1997, s. 639-641.
8. Demirer, T., Buckner, C.D., Gooley, T., Et al.: Factors influencing collection of peripheral blood stem cells in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.*, 17, 1997, s. 937-941.
9. Dreger, P., Kloss, M. Petersen, B. et al.: Autologous progenitor cell transplantation: Prior exposure to stem cell-toxic drugs determines yield and engraftment of peripheral blood progenitor cell but not of bone marrow grafts. *Blood*, 86, 1995, s. 3970-3978.
10. Droz J.P., Pico J.L., Biron P. et al.: High-dose chemotherapy with ABMT in first line treatment of poor risk non-seminomatous germ cell tumors. *Bone Marrow Transplant*, 10,S2, 1992, 27.
11. Einhorn L.H.: Testicular cancer as a model for curable neoplasm. The Richard and Linda Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Res.*, 41, 1981, 3275-3280.
12. Haas, R., Mohle, R., Fruhauf, S. et al.: Patients characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood blood progenitor cells in malignant lymphoma. *Blood*, 83, 1994, s. 3787-94.
13. Jindra, P., Koza, V., Cetkovský, P. et al.: Cyclophosphamide 3g/m² and G-CSF is an effective and safe outpatient-based PBSC mobilising regimen: a single centre experience (Letter). *Bone Marrow Transplant.*, 20, 1997, s. 91-93.
14. Jones, H.M., Jones, S.A., Watts, M.J. et al.: Development of a simplified single-apheresis approach for peripheral-blood progenitor-cell transplantation in previously treated patients with lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, 1693-1720.
15. Linkesch W., Krainer M., Wagner W.: Phase I/II trial of ultrahigh carboplatin, etoposide, cyclophosphamide with ABMT in refractory or relapsed non-seminomatous germ cell tumors. *Bone Marrow Transplant.*, 10,S2, 1992, 28-29.
16. Loehrer P.J., Lauer R., Roth B.J. et al.: Salvage therapy in recurrent germ cell cancer: ifosfamide and cisplatin plus either vinblastine or etoposide. *Ann. Intern. Med.*, 109, 1988, 540-546.
17. Neben, S., Hellman, S., Montgomery, M. et al.: Hematopoietic stem cell deficit of transplanted bone marrow previously exposed to cytotoxic agents. *Exp. Haematol.*, 21, 1993, 156-161.
18. Nichols C., Broun E.R., Einhorn L.: New directions in the treatment of poor risk and recurrent germ cell cancer: review of American clinical trials using high-dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant.*, 10,S2, 1992, 22-25.
19. Nicols C.R., Tricot G., Williams S.D. et al.: Dose-intensive chemotherapy in refractory germ cell cancer: A phase I/II trial of high dose carboplatin and etoposide with autologous bone marrow transplantation. *J. Clin. Oncol.*, 7, 1989, 932-939.
20. Pannaciuoli, I., Castello, G., Lerza, R. et al.: Cisplatin inhibits erythroid committed progenitor (BFU-E) mobilization in peripheral blood. *Eur.J.Haematol.*, 61, 1998, s. 65-70.