

Mobilizacja krwiotwórczych komórek macierzystych — wczoraj i dziś

Hematopoietic stem cell mobilization: yesterday and today

Grzegorz W. Basak, Wiesław W. Jędrzejczak

Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Metoda mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC) do krwi obwodowej umożliwiła ich efektywne pobieranie z krwi, zamiast ze szpiku, w celu autologicznego lub allogenicznego przeszczepienia. Zależnie od aktywności choroby, a także od potrzeby stosowania leczenia chemioterapeutycznego, obecnie stosuje się protokoły mobilizacji oparte na podawaniu czynnika stymulującego wzrost kolonii granulocytów (G-CSF) — samego lub w skojarzeniu z chemioterapią. Mobilizacje według tych protokołów są na ogół skuteczne, co udowodniono w ciągu ostatnich 15 lat. Ostatnio pojawiła się kolejna możliwość terapeutyczna, wynikająca z zastosowania pleryksaforu — swoistego antagonisty receptora chemokinowego CXCR4. Wyniki licznych badań wykazały jego wysoką skuteczność w mobilizacji HSC, szczególnie jeśli jest stosowany w skojarzeniu z G-CSF, a niekiedy także z chemioterapią. W niniejszym artykule przedstawiono rys historyczny strategii mobilizacji HSC oraz najnowsze obserwacje dotyczące zastosowania pleryksaforu.

Słowa kluczowe: mobilizacja, pleryksafor, przeszczepienie autologicznych krwiotwórczych komórek macierzystych

Hematologia 2012; 3, 1: 9–24

Abstract

The method of hematopoietic stem cells (HSC) mobilization to peripheral blood enabled their efficient collection from peripheral blood instead of bone marrow, for the purpose of autologous or allogeneic transplantation. Depending on the activity of the disease and on the need of chemotherapeutic treatment, the current protocols of mobilization consist of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) alone, or in combination with chemotherapy. The mobilizations that use these protocols are usually efficient, as it has been documented for the last 15 years of their use. Recently, the new mobilization strategy arose based on the discovery of plerixafor — a specific antagonist of the CXCR4 receptor. The numerous studies revealed its high efficacy of HSC mobilization, especially when used in combination with G-CSF, and eventually chemotherapy. The current review presents the historical perspective of HSC mobilization, focusing on the last observations regarding the use of plerixafor.

Key words: mobilization, plerixafor, autologous hematopoietic stem cell transplantation

Hematologia 2012; 3, 1: 9–24

Adres do korespondencji: Grzegorz W. Basak, Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1A, 02–097 Warszawa, tel. 22 599 26 40, faks: 22 599 14 18, e-mail: gbasak@ib.amwaw.edu.pl

Wprowadzenie

Autologiczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych (auto-HSCT, *autologous hematopoietic stem cell transplantation*) znalazło szerokie zastosowanie w leczeniu chorych na nowotwory układu krwiotwórczego i chłonnego [1]. Jego skuteczność terapeutyczna opiera się na umożliwieniu zastosowania wysokodawkowej chemioterapii, która ma za zadanie istotnie zmniejszyć liczbę komórek nowotworowych lub całkowicie je wyeliminować. Infuzja preparatu własnych krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC, *hematopoietic stem cells*), pobranych od pacjenta przed zastosowaniem wysokodawkowej chemioterapii, umożliwia regenerację hematopoezy.

Skuteczność auto-HSCT zależy od wielu czynników, a jednym z kluczowych jest liczba przeszczepianych HSC [2]. Powszechnie liczbę $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. uważa się za minimalną, która pozwala uzyskać stabilne wszczepienie, jakkolwiek dawki $4-5 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. lub większe są związane z szybszą regeneracją granulocytów obojętnochłonnych i płytek krwi (PLT, *platelets*), krótszym czasem hospitalizacji, mniejszą częstością przetoczeń preparatów krwiopochodnych i stosowania antybiotykoterapii [3].

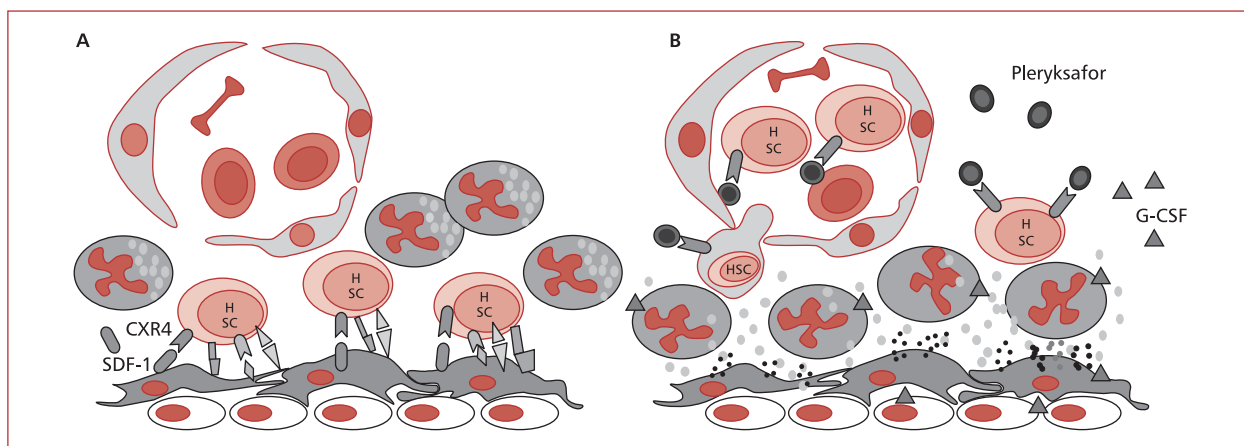
O ile głównym miejscem występowania i funkcjonowania HSC u dorosłego człowieka jest szpik kostny, komórki te w niewielkiej liczbie (mniej niż 0,05% wszystkich krwinek białych) są także obecne we krwi obwodowej [4]. Istnieją liczne hipotezy dotyczące znaczenia tego zjawiska [5]. Uważa się, że krążenie, czyli recyrkulacja HSC, umożliwia zachowanie jednorodnego składu szpiku w odrębnych miejscach hematopoezy poprzez wypełnianie wolnych niszy krwiotwórczych opuszczonych przez HSC, które uległy różnicowaniu. Inni z kolei uważają, że recyrkulujące HSC mogą dodatkowo uczestniczyć w regeneracji uszkodzonych tkanek.

Obecnie u dorosłych chorych do auto-HSCT wykorzystuje się głównie HSC pobrane z krwi obwodowej (PBSC, *peripheral blood stem cells*), a rzadziej z głównego miejsca ich występowania, czyli ze szpiku kostnego (BM, *bone marrow*) [6]. W Europie aż w 99% auto-HSCT wykonanych w 2009 roku wykorzystywano PBSC [6]. Postępowanie to wynika zarówno z powodów logistycznych (łatwiejszy dostęp do krwi obwodowej niż do szpiku, niewymagający zaplecza sali operacyjnej), wyboru pacjenta, a także szybszego odtwarzania krwiotworzenia w przypadku zastosowania PBSC w porównaniu z BM. W odniesieniu do zdrowych dawców stwierdzono,

że czas powrotu dobrego samopoczucia wynosił 3 tygodnie po pobraniu szpiku metodą inwazyjną i tylko tydzień po pobraniu PBSC. U dawców szpiku obserwowano częstsze występowanie ciężkich działań niepożądanych (1,34%) w porównaniu z dawcami PBSC (0,6%) [7]. Pobranie PBSC od chorych z zajęciem szpiku przez proces nowotworowy umożliwia uzyskanie preparatu mniej zanieczyszczonego komórkami nowotworowymi niż przy pobraniu HSC ze szpiku [8]. Przeszczepianie PBSC umożliwia także szybszą odnowę układu krwiotwórczego i odporności swoistej niż w przypadku przeszczepiania BM [9, 10]. Część autorów opisuje rzadsze występowanie infekcji, mniejszą liczbę dni z gorączką neutropeniczną, mniejszą częstość przetoczeń składników krwi, mniejsze zużycie antybiotyków i liczbę hospitalizacji na oddziałach intensywnej opieki medycznej, co w konsekwencji skutkuje niższymi kosztami przeszczepiania PBSC niż BM [11–13].

Tradycyjne protokoły mobilizacji

Aby zwiększyć liczbę PBSC krążących we krwi, obecnie wykorzystuje się zabiegi mobilizacji. Pierwszym czynnikiem krwiotwórczym wykorzystanym do tego celu był czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*). Dopiero później wprowadzono czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*) [14, 15], który obecnie jest powszechnie stosowany. Częstsze zastosowanie G-CSF w tym wskazaniu nie wynikało z mniejszej skuteczności GM-CSF, ale z wycofania w wielu krajach tego leku z powodu jego mniejszej skuteczności w zwalczaniu neutropenii po chemioterapii. We wstępnym badaniu I/II fazy w grupie 30 chorych z nowotworami wykazano, że po 4 dniach codziennych podań G-CSF liczba PBSC zwiększała się nawet 100-krotnie w porównaniu z wyjściową liczbą komórek [16]; G-CSF okazał się też czynnikiem stosunkowo mało toksycznym — bardzo rzadko opisywano ciężkie działania niepożądane, takie jak pęknięcie śledziony, obrzęk płuc i incydenty sercowo-naczyniowe [17]. Mobilizujące działanie G-CSF nasila się w pierwszych dniach jego podawania. Początkowo narasta liczba krwinek białych (WBC, *white blood cells*), a stężenie PBSC osiąga maksimum w 5.–6. dobie od rozpoczęcia podawania G-CSF. Schemat ten jest stosowany do dziś. Jeśli G-CSF stosuje się jako jedyny czynnik mobilizujący, to podaje się go codziennie, zwykle podskórnie,



Rycina 1. Mechanizmy mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC) za pomocą czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF) i pleryksaforu: **A.** Stan stacjonarny; **B.** Po zastosowaniu G-CSF granulocyty degranulują, a uwolnione enzymy trawią cząsteczki adhezyjne. Pleryksafor specyficznie blokuje receptory CXCR4, co powoduje przemieszczanie się HSC do krążenia

Figure 1. The mechanisms of hematopoietic stem cell (HSC) mobilization with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and plerixafor: **A.** Stationary state; **B.** After administration of G-CSF the granulocytes degranulate and released enzymes digest adhesion molecules. Plerixafor specifically blocks the CXCR4 receptors that moves HSC to circulation

w dawkach 5–10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mc., rozpoczynając co najmniej 4 dni przed pierwszą planowaną aferезą i kontynuując aż do ostatniej aferезy; PBSC są zazwyczaj pobierane podczas 2–5 aferез [18, 19].

Mechanizmy mobilizacji za pomocą G-CSF nie zostały jeszcze w pełni wyjaśnione. Wiadomo, że G-CSF indukuje funkcjonalne zmiany w mikrośrodkowisku szpiku, a enzymy uwalniane z komórek linii mieloidalnej trawią cząsteczki adhezyjne i upośledzają interakcje między chemokinami, ich receptorami i istotą międzykomórkową, prowadząc do uwolnienia HSC do krwiobiegu [20, 21] (ryc. 1). Wskutek aktywności G-CSF nasila się dojrzewanie komórek mieloidalnych w kierunku granulocytów. Komórki te uwalniają aktywne proteazy neutrofilowe katepsynę G i elastazę, jak również metaloproteinazę-9 [22, 23]. To z kolei powoduje trawienie cząsteczek adhezyjnych: VCAM-1, c-KIT, CXCR4 i SDF-1 [21, 23–25]. Ponadto wykazano, że G-CSF hamuje aktywność osteoblastów, zmniejszając ekspresję mRNA dla SDF-1 (*stroma-derived factor-1*), przez co HSC mogą być uwalniane do krwi [26].

Zaobserwowano także, że w fazie odnowy hematopoezy pomielosupresyjnej, ale nie mieloablastycznej chemioterapii, liczba PBSC istotnie wzrasta [27, 28]. Ma to najprawdopodobniej złożony mechanizm, wtórny do wydzielania wielu cytokin odgrywających rolę w regeneracji krwiotworzenia. Możliwa jest także nadprodukcja granulocytów obojętnochnonnych i wydzielanych przez nie enzymów

proteolitycznych, które wpływają na uwalnianie do HSC krwiobiegu, czyli tak zwaną mobilizację [29]. Pierwsze takie obserwacje kliniczne poczyniono u chorych na raka jajnika, których leczono skojarzeniem doksorubicyny i cyklofosfamidu. Obecność PBSC we krwi tych pacjentek oceniano za pomocą testu klonogenego komórek tworzących kolonie granulocytów i makrofagów (CFU-GM, *colony forming unit-granulocyte macrophage*) i wykazano nawet 20-krotne zwiększenie we krwi liczby komórek tworzących kolonie po 21 dniach od chemioterapii. Wyciągnięto z tego wnioski, że przetworzenie 17 litrów krwi w procesie leukaferезy powinno zapewnić liczbę PBSC wystarczającą do wykonania przeszczepienia u człowieka [27]. Inni badacze potwierdzili także, że wcześniejsze zastosowanie mielosupresyjnej chemioterapii powoduje zwiększenie liczby PBSC 5–15-krotnie, co wykorzystano w celu pobierania tych komórek do późniejszego przeszczepienia [27, 30].

Wyniki dalszych badań wykazały, że podawanie G-CSF w okresie po zastosowaniu mielosupresyjnej chemioterapii pozwala na dalsze zwiększenie liczby krążących PBSC [16, 31–33]. Obserwowano przy tym znacznie większą liczbę PBSC niż w przypadku mobilizacji za pomocą samej chemioterapii lub samego czynnika G-CSF, a w konsekwencji wzrastała liczba komórek CD34+ pobieranych w drodze aferезy. Strategię tę nazwano „chemomobilizacją”, podczas której maksymalną liczbę

Tabela 1. Zalety i wady tradycyjnie stosowanych schematów mobilizacji

Table 1. Advantages and disadvantages of traditional stem cell mobilization regimens

Schemat	Zalety	Wady
G-CSF	Niższa toksyczność Przewidywalny czas mobilizacji umożliwiający organizację aferez Wysoka skuteczność u większości chorych Możliwe podanie poza szpitalem	Brak aktywności przeciwnowotworowej Niższy zbiór komórek CD34+ (w porównaniu ze schematem G-CSF + chemioterapia)
G-CSF + chemioterapia	Większy zbiór komórek CD34+ niż przy stosowaniu samego G-CSF Aktywność przeciwnowotworowa	Większa częstość hospitalizacji Mała przewidywalność czasu, w którym mobilizacja jest największa Potencjalne uszkodzenie podścieliska Toksyczność hematologiczna i powikłania

G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów

PBSC stwierdza się zwykle po 10–18 dniach od podania chemioterapii, co na ogół koreluje ze zwiększeniem liczby WBC [29, 34]. Wykazano, że chemomobilizacja wymagała mniejszej liczby aferez, aby zebrać wymaganą liczbę komórek CD34+ niż mobilizacja samym G-CSF [35, 36]. Chemomobilizacja wydaje się także skuteczniejsza niż stosowanie samego G-CSF u pacjentów wcześniej intensywnie leczonych chemioterapią [37] lub lekami immunomodulującymi, takimi jak na przykład lenalidomid [38, 39].

Chemioterapia wykorzystywana w celu chemomobilizacji obejmuje protokoły służące wyłącznie do tego celu oraz protokoły chemioterapii stosowane w leczeniu podstawowej choroby pacjenta, których dodatkowym efektem może być mobilizacja HSC. Spośród leków z pierwszej grupy szczególnie rozpowszechnione jest stosowanie cyklofosfamidu w dawce 1–7 g/m² w skojarzeniu z G-CSF [40]. Inne protokoły obejmują podawanie etopozydu lub arabinozydu cytozyny w dużych dawkach w kombinacji z G-CSF. Protokoły te stosuje się przede wszystkim w mobilizacji chorych na szpiczaka plazmocytozowego (PCM, *plasma cell myeloma*). Z kolei u chorych na chłoniaki stosuje się protokoły, które obejmują podawanie chemioterapii indukcyjnej lub tak zwanej ratakowej oraz G-CSF, jak na przykład cykl DHAP (deksametazon, cytarabina, cisplatyna), ESHAP (etopozyd, cytarabina, cisplatyna, metyloprednizolon) [41, 42] lub ICE (ifosfamid, karboplatyna i etopozyd) [43]. Zastosowanie takiej chemioterapii, z jednej strony, prowadzi do zahamowania wzrostu nowotworu, a z drugiej, pozwala ominąć potrzebę podawania odrębnego kursu chemioterapii mobilizacyjnej.

Istnieje także wiele negatywnych zjawisk związanych z chemomobilizacją, które nie pozwalają na jednoznaczne stwierdzenie jej wyższości nad mobilizacją za pomocą samego G-CSF (tab. 1). Chemo-

mobilizacja jest związana ze zwiększonym ryzykiem infekcji, zwiększoną częstością hospitalizacji, przetoczeń preparatów krwiopochodnych, antybiotykoterapii, a więc koszty jej stosowania są większe [44–48]. Ponadto chemomobilizacja cechuje się mało przewidywalnym odstępem czasu między chemioterapią a dniem, w którym liczba komórek CD34+ we krwi obwodowej jest wystarczająco wysoka, aby rozpocząć aferezę. To z kolei skutkuje nieprzewidywalnością terminu pierwszej aferezę, a także koniecznością nieplanowanych aferez w dniach wolnych od pracy [49, 50]. Istnieją też doniesienia wskazujące, że odsetek chorych, którzy zebrali minimum $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. oraz odsetek niepowodzeń chemomobilizacji jest podobny, jak w przypadku mobilizacji za pomocą samego G-CSF [51].

Część chorych nie jest jednak w stanie zmobilizować wystarczającej liczby PBSC do wykonania auto-HSCT niezależnie od tego, czy stosowano chemomobilizację czy mobilizację samym G-CSF [52]. W retrospektywnym badaniu w grupie 1834 chorych na chłoniaka nieziarniczego (NHL, *non-Hodgkin lymphoma*), chłoniaka Hodgkina (HL, *Hodgkin lymphoma*) i PCM stwierdzono, że odpowiednio u 26,8%, 26,4% i 6,6% pacjentów, nie udało się pobrać wymaganego minimum $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. [51]. Choć odsetek takich chorych znacznie różni się w raportach pochodzących z różnych ośrodków, to przeciętnie wynosi on 5–30% [52]. Wiele czynników może powodować nieskuteczną mobilizację (tab. 2). Wśród nich należy wymienić: zaawansowany wiek, postępującą chorobę podstawową, zwłaszcza z masywnym zajęciem szpiku, wcześniejszą chemioterapię i/lub radioterapię, rodzaj stosowanych wcześniej leków przeciwnowotworowych mogących utrudniać mobilizację (fludarabina, melfalan, lenalidomid), nieudane wcześniej-

Tabela 2. Czynniki o potwierdzonym, negatywnym wpływie na skuteczność mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych (źródła: [38, 53–55])

Table 2. Factors negatively affecting the efficacy of hematopoietic stem cell mobilization (sources: [38, 53–55])

Wiek > 60 lat
Chłoniaki niezziarnicze
Wcześniejsza radioterapia
Liczne cykle chemioterapii
Wcześniejsze leczenie melfalanem lub fludarabiną
Nowe leki stosowane w indukcji (np. lenalidomid)
Liczba płytek < 150 g/l

sze mobilizacje, małopłytkowość w czasie aferezy i gorączkę neutropeniczną podczas mobilizacji [3, 38, 51, 56–58]. Mimo znajomości tych czynników, wciąż jednak trudno jest przewidzieć, czy u danego chorego mobilizacja będzie skuteczna.

Pacjenci, u których nie powiodła się pierwsza próba mobilizacji, a u których jest planowane wykonanie auto-HSCT, są poddawani kolejnej próbie mobilizacji. Najczęściej jest to chemomobilizacja (w przypadku niepowodzenia wcześniejszej mobilizacji samym G-CSF), chemomobilizacja z wykorzystaniem bardziej intensywnego schematu chemioterapii (np. etopozydu w dawce 1,6 g/m² w przypadku niepowodzenia mobilizacji za pomocą cyklofosfamid w dawce 4 g/m²) lub powtórna mobilizacja według identycznego schematu, jak w pierwszej mobilizacji (najczęściej w przypadku mobilizacji wykonywanej przy okazji stosowania terapeutycznej chemioterapii) [59]. Niestety, skuteczność ponownej mobilizacji u takich pacjentów jest jeszcze niższa niż w przypadku pierwszej mobilizacji [51]. Spośród chorych analizowanych przez Pusic i wsp. [51] jedynie od 23% ponownie mobilizowanych pacjentów uzyskano co najmniej 2,0 × 10⁶ komórek CD34+/kg mc. podczas kolejnej próby ich pobrania, a 29,7% pacjentów nie uzyskało wystarczającej liczby komórek, nawet gdy łączono preparaty z kolejnych prób mobilizacji.

Pleryksafor

Pleryksafor (AMD3100, *Mozobil*[®]) jest swoistym antagonistą receptora chemokinowego CXCR4, który zsyntetyzowano z myślą o leczeniu infekcji wirusem zespołu nabytego niedoboru odporności (HIV, *human immunodeficiency virus*) [60, 61]. Receptor CXCR4 jest koreceptorem wirusa HIV potrzebnym do wnikięcia patogenu do komór-

ki [62]. Występuje na wielu typach komórek, między innymi na limfocytach T, granulocytach obojętnochłonnych oraz komórkach macierzystych. W mikrośrodowisku szpiku obecny jest czynnik pochodzący z komórek podścieliska 1 (SDF-1, *stroma-derived factor 1*), który jest naturalnym ligandem dla receptora CXCR4. Wzajemna interakcja SDF-1 i CXCR4 odgrywa kluczową rolę w utrzymywaniu komórek macierzystych w ścisłym kontakcie z podścieliskiem szpiku [63]. Pleryksafor w sposób odwracalny hamuje tę interakcję.

W trakcie badań klinicznych I fazy u pacjentów zakażonych HIV [64] i u zdrowych wolontariuszy [65] obserwowano gwałtowne zwiększenie liczby WBC po podaniu pleryksaforu, czemu towarzyszyła mobilizacja HSC ze szpiku do krwi obwodowej. W badaniach wykazano istotny, 12-krotny wzrost liczby komórek CD34+ po 4–6 godzinach od iniekcji pleryksaforu [66]. W ciągu kolejnych 3 dni, w których podawano pleryksafor zdrowym ochotnikom, każdego dnia obserwowano podobne zwiększenie liczby krążących komórek CD34+, inaczej niż w przypadku iniekcji G-CSF [66]. W badaniu I fazy w grupie pacjentów z nowotworami układu chłonnego stwierdzono, że pojedyncze, podskórne podanie pleryksaforu powoduje 6-krotny wzrost liczby krążących komórek CD34+ po 4–6 godzinach od iniekcji [67]. Pleryksafor jest szybko wchłaniany po jego podskórnym podaniu i osiąga maksymalne stężenie we krwi po 30–60 minutach. Lek ten wykazuje liniową kinetykę w zależności od podawanej dawki w zakresie 40–240 μg/kg mc., jest eliminowany w postaci niezmięnionej z moczem, a jego okres półtrwania wynosi około 3–5 godzin u chorych bez niewydolności nerek [66, 68]. Pleryksafor okazał się bezpiecznym lekiem, a większość działań niepożądanych, takich jak: biegunka, nudności, ból w miejscu iniekcji, była łagodna i przejściowa [69]. Ciężkie działania niepożądane obserwowano bardzo rzadko i obejmowały spadek ciśnienia i zawroty głowy po podaniu leku oraz małopłytkowość po aferezie [70].

W badaniu I fazy z udziałem zdrowych dawców wykazano, że pojedyncze podanie pleryksaforu powodowało podobną mobilizację HSC, jak po stosowaniu G-CSF przez kolejne 5 dni [71]. Ponadto podanie pojedynczej dawki pleryksaforu w skojarzeniu ze standardowym cyklem pięciu podań G-CSF umożliwiło 3,6-krotne zwiększenie liczby krążących komórek CD34+, w porównaniu z mobilizacją bez pleryksaforu [71]. W sytuacji, w której pleryksafor stosowano w skojarzeniu z G-CSF, maksymalne stężenie komórek CD34+ we krwi obserwowano po 10–14 godzinach od podania pleryksaforu [71].

W przypadku stosowania pleryksaforu, podobnie jak w przypadku stosowania innych protokołów mobilizacji, istnieje niebezpieczeństwo mobilizacji komórek nowotworowych, które mogłyby się przyczynić do wznowy choroby po ich przeszczepieniu. Wpływ komórek nowotworowych zawartych w przeszczepianym preparacie na progresję choroby wciąż nie jest jasny, a w dotychczasowych badaniach nie wykazano również ich wpływu na odległe wyniki po auto-HSCT [72, 73]. Wyniki badań przeprowadzonych u chorych na NHL lub PCM nie wskazują na większe zanieczyszczenie komórkami nowotworowymi materiału uzyskanego po mobilizacji za pomocą pleryksaforu i G-CSF w porównaniu z mobilizacją użyciem samego G-CSF [74, 75]. Ponieważ u chorych na ostrą białaczkę szpikową (AML, *acute myeloid leukemia*) i białaczką plazmatyczną z obserwowano zwiększenie liczby krążących komórek nowotworowych po podaniu pleryksaforu, mobilizacja z wykorzystaniem tego leku jest obecnie przeciwwskazana u pacjentów z tymi białaczkami [76].

Badania rejestracyjne

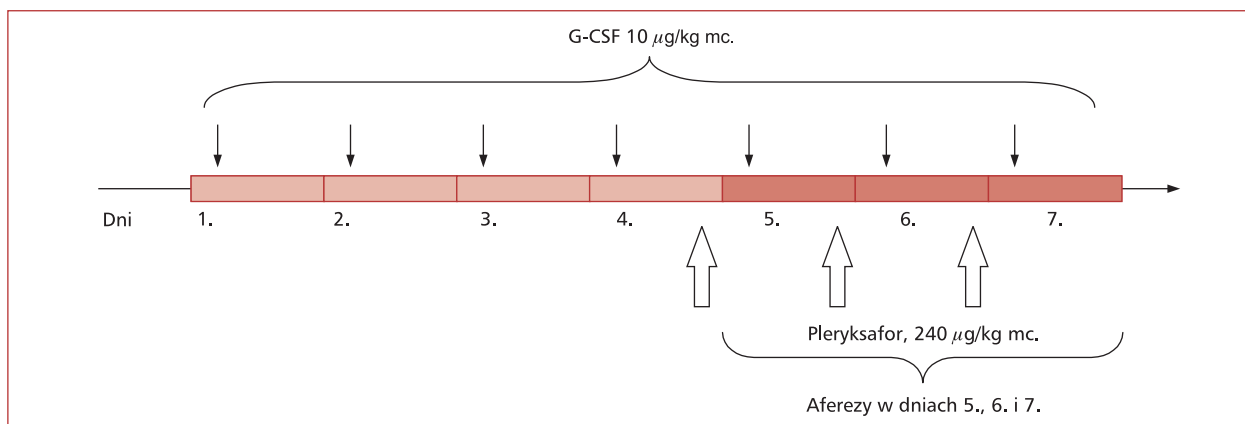
Skuteczność pleryksaforu w mobilizacji PBSC u chorych na PCM i NHL była przedmiotem dwóch wielośrodkowych, randomizowanych, przeprowadzonych metodą podwójnie ślepej próby, kontrolowanych placebo badań klinicznych III fazy [70, 77]. Pierwotnym punktem końcowym badania przeprowadzonego u chorych na NHL było zebranie co najmniej $5,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. podczas 4 dni aferezy, natomiast w badaniu u pacjentów z PCM było to co najmniej $6,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. zebranych w trakcie 2 aferez. Protokół mobilizacji stosowany w obu badaniach obejmował podawanie G-CSF ($10 \mu\text{g}/\text{kg mc.}/\text{d.}$) i pleryksaforu ($240 \mu\text{g}/\text{kg mc.}$) lub G-CSF ($10 \mu\text{g}/\text{kg mc.}/\text{d.}$) i placebo. Pleryksafor lub placebo podawano wieczorem, 4. dnia standardowego stosowania G-CSF, a aferezę rozpoczynano dnia 5., niezależnie od liczby komórek CD34+ we krwi obwodowej. Podawanie leków kontynuowano do czasu wykonania maksymalnie 4 aferez lub mniej niż 4, jeśli docelową liczbę komórek CD34+ zebrano wcześniej. Spośród chorych na NHL 59% pacjentów z grupy leczonej pleryksaforem i 20% pacjentów z grupy otrzymującej placebo osiągnęło pierwotny punkt końcowy ($p < 0,001$). Czas do osiągnięcia odpowiedniej liczby neutrofilów (ANC, *absolute neutrophil count*) i PLT po przeszczepieniu był podobny w obu grupach. Spośród chorych na PCM 71,6% pacjentów z grupy leczonej pleryksaforem i 34,4% pacjentów z grupy otrzymującej placebo osiągnęło pierwotny punkt końcowy

($p < 0,001$). Ogółem 54% chorych leczonych pleryksaforem osiągnęło docelową liczbę komórek CD34+ po 1 aferezie, natomiast 56% pacjentów z grupy przyjmującej placebo wymagało 4 aferez.

Chorzy na NHL z obu grup wymienionego wyżej badania, u których mobilizacja się nie powiodła, czyli zebrali mniej niż $0,8 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. z 2 aferez lub mniej niż $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. z 4 aferez, byli kwalifikowani do ratunkowego protokołu mobilizacji. Po minimum 7 dniach przerwy od poprzedniej mobilizacji pacjenci otrzymywali przez 4 dni G-CSF w dawce $10 \mu\text{g}/\text{kg mc.}/\text{dobę}$, a następnie pleryksafor w dawce $240 \mu\text{g}/\text{kg mc.}$ i G-CSF, a następnie wykonywano aferezy przez maksymalnie 4 dni. Spośród 68 chorych, u których pierwsza mobilizacja się nie powiodła (11 chorych z grupy leczonej pleryksaforem i 57 chorych z grupy przyjmującej placebo), 62 przystąpiło do ratunkowej próby mobilizacji (10 chorych z grupy leczonej pleryksaforem i 52 chorych z grupy przyjmującej placebo). W wyniku ratunkowej mobilizacji od 4 na 10 (40%) chorych z grupy pierwotnie mobilizowanej pleryksaforem i 33 na 52 (63%) chorych z grupy przyjmującej placebo uzyskano co najmniej $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. [78].

Przedstawione wyżej badania stały się podstawą do rejestracji pleryksaforu przez Agencję ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Administration*) w Stanach Zjednoczonych w 2008 roku [79] i Europejską Agencję ds. Leków (EMA, *European Medicines Agency*) w 2009 roku [80, 81]. Zgodnie ze wskazaniami rejestracyjnymi w Europie pleryksafor jest obecnie zalecany w skojarzeniu z G-CSF w celu zwiększenia mobilizacji HSC do krwi obwodowej u chorych na NHL i PCM kwalifikowanych do auto-HSCT, u których nie powiodła się wcześniejsza mobilizacja.

W celu wdrożenia pleryksaforu do protokołów mobilizacji HSC w praktyce klinicznej producent leku (*Genzyme*[®]) wprowadził program charytatywny (CUP, *Compassionate Use Program*), w ramach którego udostępnił lek bezpłatnie. Pacjenci, którzy otrzymywali pleryksafor w ramach CUP, musieli spełniać określone kryteria kwalifikacyjne [82]. Zalecenia obejmowały stosowanie pleryksaforu w skojarzeniu z G-CSF według protokołu opisanego powyżej dla badań klinicznych III (ryc. 2). Program ten umożliwił ocenę skuteczności pleryksaforu w codziennej praktyce klinicznej, w heterogenych grupach chorych, którzy często byli obciążeni niekorzystnymi dla mobilizacji czynnikami prognostycznymi. Leczenie to skierowano głównie do chorych, u których nie powiodła się wcześniejsza mobilizacja. W związku z tym wyniki CUP miały odzwierciedlać rzeczywistą skuteczność pleryksaforu



Rycina 2. Polecany schemat mobilizacji z wykorzystaniem pleryksaforu i czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF). Od 1. dnia choroby otrzymują codziennie G-CSF w dawce 10 mg/kg mc. W 4. dniu mobilizacji, w godzinach wieczornych, to jest 10–11 godzin przed spodziewanym rozpoczęciem aferez, pacjenci otrzymują podskórną iniekcję pleryksaforu (240 mg/kg mc.). Pierwsza aferaza jest zaplanowana na 5. dzień mobilizacji. W razie potrzeby podanie G-CSF i pleryksaforu oraz następujące po nich aferazy można powtarzać w ciągu kolejnych dni

Figure 2. The recommended regimen of stem cell mobilization with plerixafor and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF). Since the first day, the patients receive daily injections of G-CSF at a dose of 10 mg/kg. On the fourth day of mobilization, in the evening — 10–11 h before the expected apheresis, the patients receive the first injection of plerixafor (240 mg/kg). The first apheresis is scheduled for the fifth day of mobilization. When needed, the injections of G-CSF, plerixafor and aphereses can be repeated on following days

w codziennej praktyce, jak przypuszczano, różniącą się od wyników uzyskanych w randomizowanych badaniach klinicznych.

Doświadczenia własne

Mobilizację z wykorzystaniem pleryksaforu i G-CSF zastosowano u 16 chorych leczonych w Klinice Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego [83]. Dziesięciu chorych miało rozpoznanie PCM, 3-HL i 3-NHL. Mediana wieku wynosiła 59 lat (zakres, 19–71). Zdecydowana większość pacjentów miała aktywną chorobę nowotworową i tylko 3 chorych było w całkowitej remisji (CR, *complete remission*). Pacjenci byli wcześniej intensywnie leczeni, a mediana liczby podawanych wcześniej kursów chemioterapii wynosiła 9 (zakres, 4–27). Czterech chorych było wcześniej leczonych radioterapią, a u 5 pacjentów wcześniej wykonano auto-HSCT. Wyniki przeprowadzonego badania w ramach CUP potwierdziły wysoką skuteczność mobilizacji za pomocą pleryksaforu w grupie chorych obciążonych ryzykiem niepowodzenia standardowej mobilizacji. W 1. dobie po podaniu pleryksaforu u 13 na 16 pacjentów zaobserwowano co najmniej 15 komórek CD34+/ μl we krwi obwodowej, co pozwoliło na rozpoczęcie aferez. Mediana liczby komórek CD34+ we krwi obwodowej wynosiła 23 komórki CD34+/ μl i była niższa niż w większości opublikowanych wcześniej

badaniach prospektywnych [67, 71, 74]. Różnice te mogły wynikać z selekcji pacjentów w wymienianych badaniach.

We wcześniejszych badaniach nie wykazano także zwiększonej liczby WBC podczas mobilizacji z wykorzystaniem pleryksaforu i G-CSF. W badanej grupie chorych odnotowano natomiast wyższą liczbę WBC wynikającą ze zwiększenia ANC. Mediana WBC po pierwszym podaniu pleryksaforu wynosiła 36,5 G/l (zakres, 11,4–72,5 G/l) i zwiększała się o około 10 G/l po każdym kolejnym podaniem leku. W konsekwencji, mimo satysfakcjonującej zawartości komórek CD34+ we krwi obwodowej, ich odsetek wśród WBC był niewielki (mediana 0,067% po 1 iniekcji pleryksaforu). Podobne obserwacje dotyczące liczby WBC poczyniono już w badaniu I fazy u zdrowych ochotników, u których stosowano sam pleryksafor, choć odnotowano wtedy niższe wartości WBC [68].

Wybiórczość procesu aferazy, czyli zdolność do oddzielania frakcji komórek jednojądrowych zawierającej między innymi komórki macierzyste od granulocytów obojętnochłonnych, jest znacznie zredukowana przy wysokiej liczbie WBC [84, 85]. W związku z tym produkty aferazy wykonywanych po mobilizacji z wykorzystaniem pleryksaforu zawierały wysoki odsetek granulocytów, natomiast niski odsetek komórek CD34+. Dlatego, aby uzyskać wymaganą liczbę komórek CD34+ w preparatach,

pobierano dużą liczbę WBC (mediana $9,3 \times 10^8$ WBC/kg mc. pacjenta; zakres 6,1–24,0). Prowadziło to do uzyskania dużych objętości końcowych zamrożonych preparatów PBSC (mediana 1260 ml, zakres 500–2050 ml). Z kolei duża objętość preparatów była związana z wyższym kosztem opracowania i przechowywania materiału oraz mogła stanowić potencjalne zagrożenie dla chorych poddawanych procedurze auto-HSCT, ponieważ wiązało się to z koniecznością przetoczeń dużych objętości płynu o temperaturze zbliżonej do 0 °C, zawierającego 10% płynu kriochronnego-sulfotlenku dimetylu (DMSO, *dimethyl sulfoxide*), co mogło powodować powikłania ze strony układu krążenia. Aby tego uniknąć, preparaty PBSC podawano jako 2–3 przetoczenia, wykonywane w kolejnych dniach. Takie postępowanie nie było związane z działaniami niepożądanymi, poza przemijającymi nudnościami i wymiotami.

U 75% chorych mobilizacja z wykorzystaniem pleryksaforu powiodła się i uzyskano co najmniej $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. Wyniki te były zbliżone do tych przedstawionych przez Calandrę i wsp. [86] na podstawie retrospektywnej analizy danych z CUP w Stanach Zjednoczonych, według których uzyskano minimalną liczbę komórek CD34+ u 66% pacjentów.

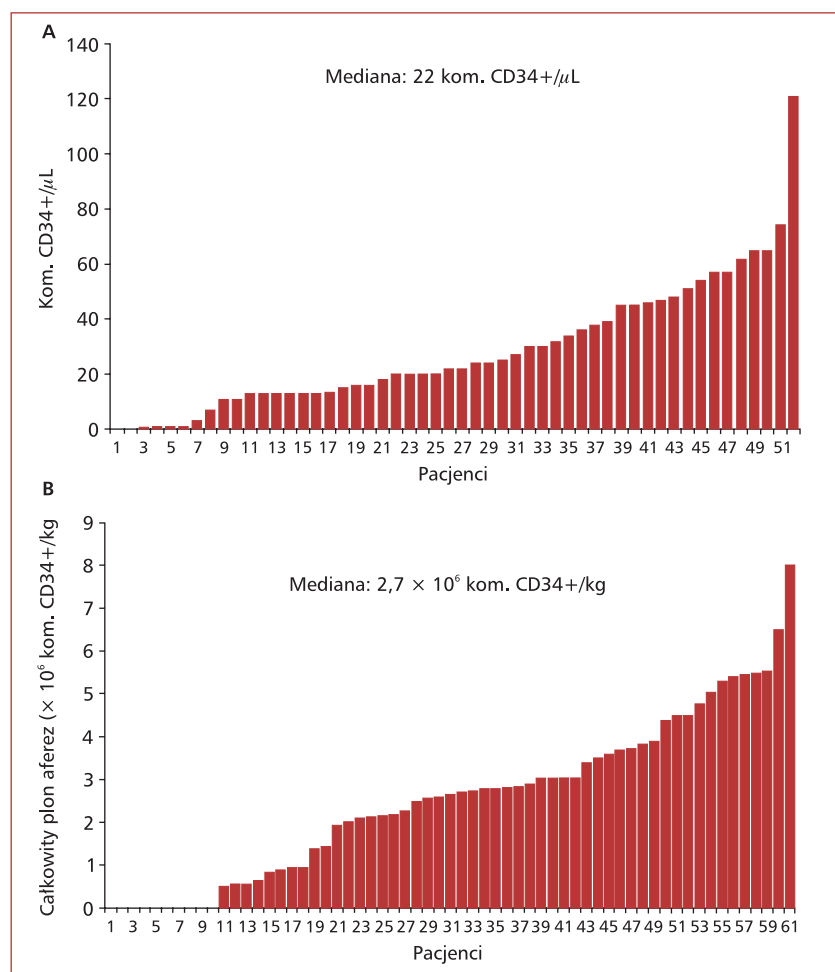
W preparatach komórek uzyskanych od chorych na PCM po mobilizacji z wykorzystaniem pleryksaforu oznaczano zawartość komórek plazmatycznych CD138+, ponieważ ich zwiększony odsetek w preparatach mógł świadczyć o jednoczesnej mobilizacji komórek nowotworowych. U 7 na 10 pacjentów stwierdzano jedynie niewielki odsetek plazmacytów, mieszczący się w granicach błędu laboratoryjnego. Jednak u 3 chorych stwierdzono 1,15%, 0,1% oraz 0,19% komórek CD138+, co stanowiło odpowiednio $4,1 \times 10^6$, $0,23 \times 10^6$ i $0,7 \times 10^6$ komórek CD138+/kg mc. Byli to pacjenci z istotnym nacieczeniem szpiku kostnego przez komórki szpiczakowe, który stwierdzano przed mobilizacją. Dlatego wydaje się, że mobilizacja PBSC z wykorzystaniem pleryksaforu i G-CSF może prowadzić do mobilizacji komórek nowotworowych u niektórych chorych na PCM. Podobne obserwacje poczyniono również wcześniej przy mobilizacjach z wykorzystaniem tradycyjnych protokołów, a rola zawartości komórek nowotworowych w preparatach wciąż nie jest ustalona. Wiadomo, że zagrożenie nawrotem choroby jest największe w przypadku mobilizacji PBSC u chorego na PCM. W przypadku innych nowotworów komórki, które nie mają zdolności do samoodnawiania, nie są w stanie odtworzyć choroby po przeszczepieniu. Wśród pacjentów, którzy zostali poddani auto-HSCT, kinetyka re-

generacji granulocytów obojętnochłonnych i PLT po przeszczepieniu nie różniła się od standardowej mobilizacji. Nie obserwowano także przedłużającej się pancytopenii po auto-HSCT, chociaż czas obserwacji chorych był ograniczony.

Doświadczenia polskie

Aby ocenić skuteczność mobilizacji za pomocą pleryksaforu stosowanego w ramach CUP w Polsce wykonano wieloośrodkowe, retrospektywne badanie [82]. W badaniu wzięło udział 11 polskich ośrodków hematologicznych, które zgłosiły łącznie 61 mobilizacji. Mediana wieku chorych wynosiła 51 lat (zakres 19–71). U 23 (37,7%) chorych rozpoznano PCM, u 20 (32,8%) — NHL, a u 18 (29,5%) — HL. Piętnastu (24,6%) pacjentów było wcześniej leczonych radioterapią, a u 11 (18%) wykonano wcześniej zabieg auto-HSCT. Mediana podanych wcześniej kursów chemioterapii wynosiła 12 (zakres 4–37), co odpowiadało medianie 3 (zakres 2–7) schematów chemioterapii. U 51 (83,6%) chorych do mobilizacji zastosowano pleryksafor, po wcześniejszym niepowodzeniu co najmniej jednej mobilizacji. Mobilizacje, które się nie powiodły w przeszłości, były w 89,9% oparte na chemioterapii i G-CSF. U około 40% pacjentów stwierdzano CR przed mobilizacją, natomiast u 47,5% uzyskano częściową remisję (PR, *partial remission*). Około 10% chorych miało chorobę aktywną, ale stabilną, natomiast u 5% pacjentów obserwowano progresję choroby. W badanej grupie chorych mediana krążących komórek CD34+ po zastosowaniu pleryksaforu wynosiła 22 komórki/ μ l (zakres 0–121) (ryc. 3). Liczba komórek CD34+ we krwi obwodowej była porównywalna po pierwszym i drugim podaniu pleryksaforu, co sugeruje, że nie występowała tachyfilaksja na pierwszą dawkę leku. Podobną tendencję obserwowano dla całkowitej liczby zebranych komórek jedonajdrowych po pierwszej i drugiej aferezie. Potwierdzono także wcześniejszą obserwację [83] dotyczącą wysokiej wartości WBC w przebiegu mobilizacji z użyciem pleryksaforu. Wśród polskich chorych mediana WBC wynosiła 36,8 G/l po pierwszym podaniu pleryksaforu (zakres 1,1–92,1).

W analizowanej grupie u 65,6% chorych uzyskano co najmniej $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. Odsetek ten był porównywalny do obserwowanego przez Calandrę i wsp. [86] w retrospektywnym badaniu przeprowadzonym w ośrodkach amerykańskich, natomiast mniejszy niż w pozostałych badaniach. Całkowita liczba zebranych komórek CD34+ (mediana $2,7 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc.; zakres 0– $8,0 \times 10^6$) była niższa niż przedstawiana przez innych badaczy. Najprawdopodobniej



Rycina 3. Wyniki mobilizacji komórek krwiotwórczych za pomocą pleryksaforu i czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów w Polsce ramach *Compassionate Use Program*: **A.** Stężenie komórek CD34+ we krwi w dniu po pierwszym podaniu pleryksaforu; **B.** Całkowity zbiór z aferez wykonanych po wyżej wymienionej mobilizacji

Figure 3. The outcomes of stem cell mobilization with plerixafor and granulocyte colony-stimulating factor within *Compassionate Use Program* in Poland: **A.** Concentration of CD34+ cells in peripheral blood morning after first plerixafor administration; **B.** Total yield of aphereses performed following above mentioned mobilization

wynikało to z ograniczonej liczby ampulek pleryksaforu przeznaczonych dla każdego chorego oraz dostępności pracowni, w których aferazy wykonywano. Mediana liczby aferaz wynosiła jedynie 2 (zakres 0–4), natomiast w badaniu Calandry i wsp. [86] mediana wynosiła 4 aferazy, a u niektórych pacjentów wykonano nawet 7 aferaz. Wydaje się, że ze względów praktycznych dane autorów niniejszej pracy wykazały rzeczywistą skuteczność pleryksaforu. Koszt tego leku będzie z pewnością ograniczył liczbę jego podań w codziennej praktyce klinicznej.

Czynniki wpływające na mobilizację z wykorzystaniem pleryksaforu

Chorzy kwalifikowani do mobilizacji z wykorzystaniem pleryksaforu byli obciążeni licznymi czyn-

nikami znanymi jako negatywne parametry predykcyjne dla tradycyjnych schematów mobilizacji [87]. W grupie 197 chorych mobilizowanych w ramach CUP w Europie Środkowej około 43% pacjentów miało rozpoznanie NHL, 39% — PCM, a 17% — HL. Mediana wieku wynosiła 56 lat (zakres 6–81), około 17% chorych było wcześniej leczonych radioterapią, a u 19% pacjentów wykonano wcześniej auto-HSCT. Mediana stosowanych wcześniej schematów chemioterapii wynosiła 3 (zakres 0–10), około 5% pacjentów było wcześniej leczonych lenalidomidem, a 11% — analogami puryn. U 69% chorych nie powiodła się co najmniej jedna wcześniejsza próba mobilizacji, natomiast pozostali pacjenci zostali zakwalifikowani do CUP ze względu na przewidywaną nieskuteczną mobilizację.

Wykazano, że po zastosowaniu pleryksaforu u 67,5% chorych uzyskano co najmniej $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc., natomiast u 32,5% mobilizacja się nie powiodła. Na podstawie analizy wieloczynnikowej zidentyfikowano następujące czynniki predykcyjne niezależnie wpływające na niepowodzenia mobilizacji: wiek chorych co najmniej 65 lat (iloraz szans [OR, *odds ratio*] 0,331, 95%-proc przedział ufności [CI, *confidence interval*]: 0,112–0,977; $p < 0,05$), rozpoznanie NHL (OR 0,277; 95% CI: 0,124–0,622; $p < 0,01$) i wcześniejsze leczenie według co najmniej 4 protokołów chemioterapii (OR 0,366; 95% CI: 0,167–0,799; $p < 0,05$). Tylko 47,6% pacjentów w wieku co najmniej 65 lat zostało skutecznie zmobilizowanych w porównaniu z 69,5% młodszych chorych ($p < 0,05$). Podobnie odsetek chorych na NHL (54,8%), którzy uzyskali minimalną wymaganą liczbę komórek CD34+, był istotnie mniejszy niż w przypadku pacjentów z PCM (77,6%) lub HL (75,8%) ($p < 0,05$). Spośród chorych leczonych zgodnie z co najmniej 4 protokołami chemioterapii tylko 55,7% zostało zmobilizowanych skutecznie, w porównaniu z 73,6% chorych, którzy otrzymali mniej linii leczenia ($p < 0,05$). Analiza jednowariantowa ujawniła istotny negatywny wpływ wcześniejszego leczenia analogami puryn. Jedynie 6 na 22 (27,3%) chorych zostało skutecznie zmobilizowanych, w porównaniu z 72,8% pacjentów, którzy nie otrzymywali we wcześniejszym leczeniu analogów puryn, chociaż analiza wieloczynnikowa ujawniła jedynie tendencję w tym zakresie (OR 0,323; 95% CI 0,096–1,094; $p = 0,07$). Najprawdopodobniej brak istotności statystycznej w analizie wieloczynnikowej wynikał z faktu, że większość schematów z użyciem analogów puryn stosowano u chorych z rozpoznaniem NHL, które okazało się być najsilniejszym, niezależnym czynnikiem prognostycznym. Analiza wieloczynnikowa wykazała także tendencję w kierunku skuteczniejszej mobilizacji u kobiet (OR 1,961; 95% CI 0,943–4,080; $p = 0,07$). U 72,8% kobiet uzyskano wymaganą liczbę komórek CD34+ w czasie mobilizacji w porównaniu z 63,8% mężczyzn.

Zidentyfikowane w tym badaniu czynniki predykcyjne były już w przeszłości opisywane jako te, które niekorzystnie wpływają na mobilizację za pomocą tradycyjnych protokołów. Co ciekawe, czynniki uważane za niekorzystne przy zastosowaniu standardowych protokołów okazywały się jednak nie mieć negatywnego wpływu na mobilizację z wykorzystaniem pleryksaforu. Należy tu wymienić takie parametry, jak wcześniejsze leczenie lenalidomidem, melfalanem, bortezomibem, radioterapią lub auto-HSCT. Podobnie odsetek chorych,

którzy uzyskali co najmniej $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc., był porównywalny po mobilizacji pleryksaforem w skojarzeniu z chemomobilizacją, jak po mobilizacji pleryksaforem z G-CSF.

Z wykonanych analiz płyną następujące wnioski. Jeśli planuje się mobilizację z wykorzystaniem pleryksaforu, to należy ją przeprowadzić jak najwcześniej w przebiegu choroby, zanim zostaną zastosowane liczne schematy chemioterapii. Należy też unikać stosowania analogów puryn przed mobilizacją. Czynniki, takie jak rozpoznanie NHL, zaawansowany wiek i płeć męska, nie są modyfikowalne, dlatego konieczny jest dalszy rozwój metod mobilizacji, aby zwiększyć jej skuteczność także w tych przypadkach. Jeśli planuje się mobilizację z wykorzystaniem pleryksaforu, to nie należy się obawiać występowania czynników opisanych wcześniej jako negatywnie wpływające na mobilizację z wykorzystaniem tradycyjnych protokołów.

Zastosowanie pleryksaforu u chorych na PCM po wcześniejszym auto-HSCT

Szczególną grupą pacjentów mobilizowanych z wykorzystaniem pleryksaforu w ramach CUP w Europie Środkowej byli chorzy na PCM, u których wcześniej wykonano już auto-HSCT, ale u których zdecydowano się na kolejną mobilizację i przeszczepienie PBSC [88]. U takich chorych procedura mobilizacji i auto-HSCT jest wykonywana najczęściej w trybie ratunkowym, gdy choroba podstawowa nie odpowiada na inne dostępne metody terapii. Chorzy ci wydają się szczególnie obciążeni czynnikami ryzyka niepowodzenia mobilizacji. Do czynników tych należy zaliczyć regenerację krwiotworzenia z ograniczonej liczby HSC, stan po wcześniejszym mieloablacyjnym kondycjonowaniu za pomocą melfalanu, często istotny naciek szpiku oraz leczenie wieloma kursami chemioterapii według wielu protokołów, włączając w to nowe leki immunomodulujące. Pacjenci kwalifikowani do powtórnej procedury auto-HSCT w ramach CUP byli wcześniej intensywnie leczeni. Mediana liczby dotychczasowych cykli chemioterapii wynosiła 17 (zakres 8–37), co stanowiło medianę 6 schematów chemioterapii (zakres 3–10), w porównaniu z medianą 7 cykli (zakres 3–28) i 2 schematów (zakres 1–7) u pozostałych pacjentów (dla obu parametrów $p < 0,001$). Pacjenci po auto-HSCT byli także znacznie częściej leczeni lenalidomidem (24% v. 4%, $p = 0,01$) i bortezomibem (86% v. 35%, $p < 0,001$) niż pozostali chorzy. Podobnie grupa pacjentów po auto-HSCT charakteryzowała się istotnie niższą medianą WBC przed rozpoczęciem mobilizacji (3,8 v. 4,4 G/l; $p < 0,05$) i niższą medianą PLT (121 v. 176 G/l; $p < 0,01$), co

może świadczyć o istotnej supresji hematopoezy u chorych poddawanych wcześniej auto-HSCT.

W dniu pierwszej spodziewanej aferezy, po pierwszym podaniu pleryksaforu, u chorych po wcześniejszym auto-HSCT obserwowano istotnie mniejszą liczbę komórek CD34+ we krwi obwodowej (mediana 19/mL, zakres 2–138) niż u pozostałych pacjentów (mediana 30/mL, zakres 4–187, $p < 0,05$). Podobnie przedstawiał się zbiór pierwszej aferezy (mediana $1,3 v. 2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc.; $p = 0,08$) oraz całkowita liczba komórek CD34+ (mediana $2,8 v. 4,2 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc.; $p < 0,05$). Jednak odsetek chorych, którzy uzyskali minimalną liczbę komórek CD34+, czyli co najmniej $2,0 \times 10^6$ /kg mc., był wystarczający do przeprowadzenia auto-HSCT i podobny w obydwu grupach (70% u chorych po wcześniejszym auto-HSCT *v.* 83% u pozostałych chorych). Na podstawie wyników tego badania okazało się, że osiągnięto cel mobilizacji u chorych po wcześniejszym auto-HSCT. Spodziewano się, że ze względu na większe uszkodzenie podścieliska szpiku u pacjentów po wcześniejszym auto-HSCT może wystąpić dłuższy czas regeneracji hematopoezy po powtórny przeszczepieniu. Jednak sytuacji takiej nie zaobserwowano, a średni czas do regeneracji ANC i PLT był porównywalny w obu grupach. W opisanym badaniu wykazano, że chorzy na PCM po wcześniejszym auto-HSCT mogą być skutecznie mobilizowani z wykorzystaniem pleryksaforu, którego użycie może prawdopodobnie zmniejszać wpływ niekorzystnych czynników rokowniczych obciążających tych chorych.

Ratunkowe zastosowanie pleryksaforu w chemomobilizacji

Zalecany dotychczas protokół mobilizacji PBSC z wykorzystaniem pleryksaforu i G-CSF nie obejmował podawania chemioterapii (jak opisano we wstępie, *patrz* ryc. 1). Zgodnie z dotychczasowymi wskazaniami powinien być on stosowany wtedy, gdy poprzednia próba mobilizacji się nie powiodła. Wymaga to zastosowania odrębnego cyklu mobilizacji, co najczęściej wiąże się z dyskomfortem pacjenta, kolejną hospitalizacją i ryzykiem powikłań, a także dodatkowymi kosztami. U niektórych chorych, zwłaszcza tych z aktywną chorobą, mobilizacja, w której nie wykorzystuje się chemioterapii, może zwiększać ryzyko progresji choroby. Z tego względu postanowiono zastosować pleryksafor w celu ratowania przebiegu chemomobilizacji, tak aby nie istniała potrzeba powtórnej mobilizacji [89].

W Klinice Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego strategię tę zastosowano u 2 chorych na

NHL, u 2 na HL i u jednego pacjenta z zespołem POEMS (*polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M protein, skin changes*) [89]. Chorzy ci byli pierwotnie mobilizowani z wykorzystaniem chemioterapii według schematu ICE lub cyklofosfamidu oraz G-CSF. Decyzję o ratunkowym podaniu pleryksaforu podjęto na podstawie suboptymalnej mobilizacji u tych pacjentów — stężenie komórek CD34+ we krwi obwodowej nie przekraczało minimalnej wartości wymaganej do rozpoczęcia aferez, to jest 15 komórek CD34+/ml, mimo liczby WBC 5,0 G/l. Po pierwszym podaniu pleryksaforu liczba komórek CD34+ we krwi zwiększała się 2,6–16 razy, co umożliwiło rozpoczęcie aferez u wszystkich chorych. Co istotne, 3 pacjentów wymagało jedynie pojedynczych podań pleryksaforu, aby osiągnąć cel mobilizacji, natomiast 2 chorych wymagało powtórnej iniekcji pleryksaforu. W konsekwencji, wszyscy chorzy podlegający innowacyjnej strategii mobilizacji uzyskali minimalną liczbę $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc.

Opisane przypadki chorych sugerują, że pleryksafor można skutecznie stosować w celu ratowania przebiegu chemomobilizacji, które nie rokuje uzyskania wystarczającego zbioru komórek CD34+. Ta strategia wydaje się szczególnie korzystna u młodych chorych na chłoniaki, którzy są zwykle mobilizowani z wykorzystaniem chemioterapii podawanej w celu leczenia choroby nowotworowej. Umożliwia ona podawanie chemioterapii w ustalonych odstępach czasu, bez opóźnień wynikających z nieudanych mobilizacji, a do auto-HSCT można przystąpić tak szybko, jak jest to możliwe.

Z danych pochodzących z Europy Środkowej wynika, że aż u 24% chorych pleryksafor stosowano w skojarzeniu z chemomobilizacją, choć rekomendowany protokół jego stosowania nie obejmował chemioterapii [90]. W populacji niemieckiej pleryksafor w połączeniu z chemomobilizacją stosowano nawet u 78% chorych [91]. Na podstawie analizowanej grupy pacjentów potwierdzono wcześniejsze obserwacje, że strategia polegająca na dodaniu pleryksaforu do mobilizacji opartej na chemioterapii i G-CSF jest skuteczna [90]. Umożliwiła ona pobranie wymaganego minimum $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. od 71% chorych. Na podstawie własnych doświadczeń [83] i raportów innych grup [92, 93] dotyczących tej strategii powstało pytanie, kiedy należy dodać pleryksafor w trakcie chemomobilizacji. Przypuszczano, że zbyt późne podanie go może być mniej skuteczne ze względu na występującą w tym czasie wysoką liczbę WBC wywołaną podawaniem G-CSF oraz wygaśnięcie mechanizmów mobilizacji zależnych od chemioterapii. Z kolei zbyt wczesne

podanie pleryksaforu może być ekonomicznie nieuzasadnione, gdyż wciąż istnieją wtedy szanse na skuteczną mobilizację komórek bez tego drogiego leku. Aby ustalić optymalny czas podania pleryksaforu, przeanalizowano dane z 48 chemomobilizacji z zastosowaniem pleryksaforu przeprowadzonych w Europie Środkowej. Zbadano zależność między całkowitą liczbą pobranych komórek CD34+, a tym samym zdolnością do uzyskania minimum $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc., a liczbą dni między zakończeniem chemioterapii i pierwszą iniekcją pleryksaforu, liczbą dni, podczas których podawano G-CSF, oraz całkowitą WBC w dniu pierwszej iniekcji pleryksaforu. Co zaskakujące, nie wykazano korelacji między tymi czynnikami. Skuteczność mobilizacji u chorych, którym podawano pleryksafor po długim odstępie czasu od chemioterapii (≥ 15 dni), jak też po długotrwałym podawaniu G-CSF (≥ 13 dni) była porównywalna z obserwowaną u pozostałych pacjentów. Podobnie chorzy, u których pleryksafor podano przy współistniejącej wysokiej liczbie WBC (≥ 20 G/l), uzyskiwali porównywalną liczbę komórek CD34+ z aferez jak pacjenci, którym podawano pleryksafor przy niższej liczbie WBC. Dlatego wydaje się, że odroczone dodanie pleryksaforu do chemomobilizacji nie wpływa negatywnie na skuteczność takiego postępowania.

Istnieje ścisła zależność między liczbą komórek CD34+ we krwi obwodowej chorych a całkowitą liczbą pobranych komórek CD34+ w trakcie aferez. Dlatego u pacjentów z liczbą komórek CD34+ mniejszą niż 10–20/ml zwykle nie wykonuje się nawet aferez, ponieważ mobilizacje przy niższych wartościach są zwykle związane z niepowodzeniem. W takich sytuacjach dodatkowe podanie pleryksaforu, jak to wykazano w powyższym badaniu, może poprawić jej przebieg. Autorzy badania przeanalizowali także, czy pleryksafor jest skuteczny, jeśli liczba krążących komórek CD34+ w dniu jego podania jest bardzo niska, czyli 3 komórki/ μ l. Wykazano, że odsetek chorych z mniej niż 3 komórkami CD34+/ μ l, którzy uzyskali minimalny zbiór $2,0 \times 10^6$ komórek CD34+/kg mc. był niższy, ale bez istotności statystycznej, w porównaniu z pozostałymi chorymi. Zaobserwowano także, że pacjenci z małą liczbą komórek CD34+ przed podaniem pleryksaforu uzyskiwali porównywalną liczbę komórek CD34+ z aferez jak pozostali chorzy, ale wymagali oni zastosowania istotnie większej liczby aferez.

Z obserwacji tych wynikają praktyczne wnioski dla lekarzy stosujących pleryksafor: niskie wartości komórek CD34+ we krwi obwodowej, wysoka liczba WBC ani duży odstęp czasu od chemioterapii do podania pleryksaforu nie wpływają

istotnie na skuteczność mobilizacji przy zastosowaniu tego leku.

Obecnie prowadzone badania dotyczące pleryksaforu

Badania dotyczące mobilizacji HSC z wykorzystaniem pleryksaforu są obecnie kontynuowane w ramach Europejskiego Konsorcjum ds. Mobilizacji Komórek Macierzystych (ECOSM, *European Consortium for Stem Cell Mobilization*) w oparciu o bazę danych obejmującą ponad 700 mobilizacji wykonanych w Europie. Opublikowane na podstawie tych danych analizy świadczą o tym, że mobilizacja z wykorzystaniem pleryksaforu w grupie pacjentów z nadwagą i otyłością jest równie skuteczna jak u pozostałych chorych, co oznacza, że porównywalny odsetek pacjentów uzyskał minimalną liczbę komórek CD34+ [94]. Jednak chorzy ze wskaźnikiem masy ciała co najmniej 25 kg/m^2 uzyskiwali niższą całkowitą liczbę komórek CD34+ i wymagali większej liczby aferez. Wykazano także, że efekt mobilizacji, który przeprowadzono z użyciem pleryksaforu u chorych na NHL, nie różnił się istotnie w zależności od podtypu chłoniaka [95]. Potwierdzono także wcześniejsze obserwacje z Europy Środkowej dowodzące, że o ile pleryksafor pozwala na skuteczną mobilizację PBSC u chorych leczonych wcześniej lenalidomidem, o tyle w przypadku pacjentów leczonych fludarabiną skuteczność mobilizacji nadal nie jest satysfakcjonująca [96].

Podstawowe zastrzeżenie EMA, zgłoszone przy rejestracji pleryksaforu w Europie, dotyczyło niebezpieczeństwa potencjalnej mobilizacji komórek nowotworowych. Wątpliwości te wynikały z doniesień, zgodnie z którymi komórki macierzyste niektórych nowotworów, takich jak na przykład raka piersi i AML, wykazują ekspresję receptorów CXCR4. W wyjaśnieniu tego problemu ma pomóc retrospektywno-prospektywne, nieinterwencyjne badanie CALM (*Collaboration to collect Autologous transplant outcomes in Lymphoma and Myeloma*) prowadzone przez Europejską Grupę Przeszczepiania Krwi i Szpiku (EBMT, *European Group for Blood and Marrow Transplantation*) [97]. W badaniu tym ma zostać ocenione bezpieczeństwo przeszczepiania PBSC mobilizowanych z wykorzystaniem pleryksaforu, w porównaniu z przeszczepieniem PBSC mobilizowanych w sposób tradycyjny. Badanie ma obejmować grupę 7000 chorych na PCM lub chłoniaki, mobilizowanych w Europie w latach 2008–2011 z wykorzystaniem lub nie pleryksaforu. Obserwacja po wykonaniu auto-HSCT ma obejmować okres 2 lat. Głównymi punktami końcowymi badania będą czas wolny od progresji choroby i całkowity

czas przeżycia. Jednym z drugorzędowych celów badania będzie również ocena mobilizacji z wykorzystaniem pleryksaforu w rozpoznaniach nieobjętych wskazaniami rejestracyjnymi.

Podsumowanie

1. Pleryksafor zastosowany w skojarzeniu z G-CSF umożliwia skuteczną mobilizację PBSC do krwi obwodowej u 65–75% chorych na PCM lub chłoniaki, u których wcześniejsza mobilizacja według standardowego protokołu była nieskuteczna.
2. Mobilizacja z wykorzystaniem pleryksaforu i G-CSF jest związana z większą liczbą WBC niż w przypadku zastosowania chemioterapii lub samego G-CSF, co powoduje znaczne rozcieńczenie komórek macierzystych w pobieranym materiale, czyli niski odsetek komórek CD34+ wśród wszystkich pobranych komórek, co z kolei wpływa na większą objętość uzyskiwanych preparatów komórek krwiotwórczych.
3. Możliwa jest jednoczesna mobilizacja do krwi obwodowej komórek nowotworowych, co zaobserwowano u niektórych chorych na PCM.
4. Odnowa hematopoezy po auto-HSCT u chorych mobilizowanych pleryksaforem jest zadowalająca, nie obserwowano też niewydolności szpiku po dłuższym czasie od zabiegu.
5. Pleryksafor można z powodzeniem dodawać do tych protokołów chemomobilizacji, które przebiegają niepomysłnie. Taka strategia prowadzi do pobrania minimum 2×10^6 komórek CD34+/kg mc. od około 71% chorych. „Późne” podanie pleryksaforu, czyli po długim czasie od zakończenia chemioterapii, po wielu dniach stosowania G-CSF lub przy towarzyszącej wysokiej liczbie WBC jest równie skuteczne, jak w pozostałych przypadkach, a bardzo mała liczba krążących komórek CD34+ we krwi w dniu pierwszej iniekcji pleryksaforu nie wpływa istotnie na prawdopodobieństwo skutecznej mobilizacji.
6. Zidentyfikowano niekorzystne czynniki, które niezależnie wpływają na skuteczność mobilizacji PBSC z wykorzystaniem pleryksaforu. Do czynników tych zalicza się: rozpoznanie NHL, wiek powyżej 65. roku życia, wcześniejsze leczenie według więcej niż 4 protokołów chemioterapii. Wcześniejsze leczenie analogami puryn również wpływa niekorzystnie na efekt mobilizacji.

7. Czynniki, które mają niekorzystny wpływ na mobilizację według standardowych protokołów, nie wpływają na skuteczność mobilizacji z wykorzystaniem pleryksaforu i G-CSF. Do czynników tych zalicza się wykonany wcześniej zabieg auto-HSCT oraz wcześniejsze leczenie lenalidomidem, bortezomibem lub radioterapią.
8. Ogólnoeuropejskie badanie CALM ostatecznie wykaże, czy przeszczepianie PBSC mobilizowanych pleryksaforem jest równie bezpieczne, jak w przypadku PBSC mobilizowanych według tradycyjnych protokołów.

Piśmiennictwo

1. Apperley J., Carreras E., Gluckman E. i wsp. The EBMT handbook: Haematopoietic stem cell transplantation. 5th Edition. European School of Haematology 2008.
2. Jillella A.P., Ustun C. What is the optimum number of CD34+ peripheral blood stem cells for an autologous transplant? *Stem. Cells Dev.* 2004; 13: 598–606.
3. Limat S., Woronoff-Lemsi M.C., Milpied N. i wsp. Effect of cell determinant (CD)34+ cell dose on the cost and consequences of peripheral blood stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma patients in front-line therapy. *Eur. J. Cancer* 2000; 36: 2360–2367.
4. McCreddie K.B., Hersh E.M., Freireich E.J. Cells capable of colony formation in the peripheral blood of man. *Science* 1971; 171: 293–294.
5. Kucia M., Reza R., Miekus K. i wsp. Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis. *Stem Cells* 2005; 23: 879–894.
6. Baldomero H., Gratwohl M., Gratwohl A. i wsp. The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46: 485–501.
7. Miller J.P., Perry E.H., Price T.H. i wsp. Recovery and safety profiles of marrow and PBSC donors: experience of the National Marrow Donor Program. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 29–36.
8. Kessinger A., Armitage J.O., Landmark J.D., Weisenburger D.D. Reconstitution of human hematopoietic function with autologous cryopreserved circulating stem cells. *Exp. Hematol.* 1986; 14: 192–196.
9. Korbling M., Przepiorka D., Huh Y.O. i wsp. Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: potential advantage of blood over marrow allografts. *Blood* 1995; 85: 1659–1665.
10. Lasky L.C., Hurd D.D., Smith J.A., Haake R. Peripheral blood stem cell collection and use in Hodgkin's disease. Comparison with marrow in autologous transplantation. *Transfusion* 1989; 29: 323–327.
11. Henon P. New developments in peripheral blood stem cell transplants. *Leukemia* 1992; 6: 106–109.
12. Beyer J., Schwella N., Zingsem J. i wsp. Hematopoietic rescue after high-dose chemotherapy using autologous peripheral-blood progenitor cells or bone marrow: a randomized comparison. *J. Clin. Oncol.* 1995; 13: 1328–1335.

13. Sheridan W.P., Begley C.G., Juttner C.A. i wsp. Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilised by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet* 1992; 339: 640–644.
14. Metcalf D. The molecular biology and functions of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Blood* 1986; 67: 257–267.
15. Welte K., Platzer E., Lu L. i wsp. Purification and biochemical characterization of human pluripotent hematopoietic colony-stimulating factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985; 82: 1526–1530.
16. Duhrsen U., Villeval J.L., Boyd J. i wsp. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988; 72: 2074–2081.
17. Tigue C.C., McKoy J.M., Evens A.M. i wsp. Granulocyte-colony stimulating factor administration to healthy individuals and persons with chronic neutropenia or cancer: an overview of safety considerations from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40: 185–192.
18. Gazitt Y., Freytes C.O., Callander N. i wsp. Successful PBSC mobilization with high-dose G-CSF for patients failing a first round of mobilization. *J. Hematother.* 1999; 8: 173–183.
19. Neupogen (filgrastim). Amgen Inc, Thousand Oaks 1991–2006 [ulotka].
20. Verfaillie C.M. Adhesion receptors as regulators of the hematopoietic process. *Blood* 1998; 92: 2609–2612.
21. Vermeulen M., Le Pesteur F., Gagnerault M.C. i wsp. Role of adhesion molecules in the homing and mobilization of murine hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 1998; 92: 894–900.
22. Levesque J.P., Takamatsu Y., Nilsson S.K. i wsp. Vascular cell adhesion molecule-1 (CD106) is cleaved by neutrophil proteases in the bone marrow following hematopoietic progenitor cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 2001; 98: 1289–1297.
23. Heissig B., Hattori K., Dias S. i wsp. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002; 109: 625–637.
24. Levesque J.P., Liu F., Simmons P.J. i wsp. Characterization of hematopoietic progenitor mobilization in protease-deficient mice. *Blood* 2004; 104: 65–72.
25. Levesque J.P., Henty J., Takamatsu Y. i wsp. Mobilization by either cyclophosphamide or granulocyte colony-stimulating factor transforms the bone marrow into a highly proteolytic environment. *Exp. Hematol.* 2002; 30: 440–449.
26. Semerad C.L., Christopher M.J., Liu F. i wsp. G-CSF potently inhibits osteoblast activity and CXCL12 mRNA expression in the bone marrow. *Blood* 2005; 106: 3020–3027.
27. Richman C.M., Weiner R.S., Yankee R.A. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood* 1976; 47: 1031–1039.
28. Abrams R.A., Johnston-Early A., Kramer C. i wsp. Amplification of circulating granulocyte-monocyte stem cell numbers following chemotherapy in patients with extensive small cell carcinoma of the lung. *Cancer Res.* 1981; 41: 35–41.
29. Demirel T., Buckner C.D., Bensinger W.I. Optimization of peripheral blood stem cell mobilization. *Stem Cells* 1996; 14: 106–116.
30. Stiff P.J., Murgo A.J., Wittes R.E. i wsp. Quantification of the peripheral blood colony forming unit-culture rise following chemotherapy. Could leukocytaphereses replace bone marrow for autologous transplantation? *Transfusion* 1983; 23: 500–503.
31. Socinski M.A., Cannistra S.A., Elias A. i wsp. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating hematopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988; 1: 1194–1198.
32. Alegre A., Tomas J.F., Martinez-Chamorro C. i wsp. Comparison of peripheral blood progenitor cell mobilization in patients with multiple myeloma: high-dose cyclophosphamide plus GM-CSF vs G-CSF alone. *Bone Marrow Transplant.* 1997; 20: 211–217.
33. Narayanasami U., Kanteti R., Morelli J. i wsp. Randomized trial of filgrastim versus chemotherapy and filgrastim mobilization of hematopoietic progenitor cells for rescue in autologous transplantation. *Blood* 2001; 98: 2059–2064.
34. Schwartzberg L.S., Birch R., Hazelton B. i wsp. Peripheral blood stem cell mobilization by chemotherapy with and without recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *J. Hematother.* 1992; 1: 317–327.
35. Dingli D., Nowakowski G.S., Dispenzieri A. i wsp. Cyclophosphamide mobilization does not improve outcome in patients receiving stem cell transplantation for multiple myeloma. *Clin. Lymphoma Myeloma* 2006; 6: 384–388.
36. Ford C.D., Greenwood J., Anderson J. i wsp. CD34+ cell adhesion molecule profiles differ between patients mobilized with granulocyte-colony-stimulating factor alone and chemotherapy followed by granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion* 2006; 46: 193–198.
37. Milone G., Leotta S., Indelicato F. i wsp. G-CSF alone vs cyclophosphamide plus G-CSF in PBPC mobilization of patients with lymphoma: results depend on degree of previous pretreatment. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31: 747–754.
38. Popat U., Saliba R., Thandi R. i wsp. Impairment of filgrastim-induced stem cell mobilization after prior lenalidomide in patients with multiple myeloma. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009; 15: 718–723.
39. Mark T., Stern J., Furst J.R. i wsp. Stem cell mobilization with cyclophosphamide overcomes the suppressive effect of lenalidomide therapy on stem cell collection in multiple myeloma. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 795–798.
40. Fu S., Liesveld J. Mobilization of hematopoietic stem cells. *Blood Rev.* 2000; 14: 205–218.
41. Watts M.J., Ings S.J., Leverett D. i wsp. ESHAP and G-CSF is a superior blood stem cell mobilizing regimen compared to cyclophosphamide 1.5 g m⁻² and G-CSF for pre-treated lymphoma patients: a matched pairs analysis of 78 patients. *Br. J. Cancer* 2000; 82: 278–282.
42. Pavone V., Gaudio F., Guarini A. i wsp. Mobilization of peripheral blood stem cells with high-dose cyclophosphamide or the DHAP regimen plus G-CSF in non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 29: 285–290.
43. Moskowitz C.H., Bertino J.R., Glassman J.R. i wsp. Ifosfamide, carboplatin, and etoposide: a highly effective cytoreduction and peripheral-blood progenitor-cell mobilization regimen for transplant-eligible patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 1999; 17: 3776–3785.
44. Koc O.N., Gerson S.L., Cooper B.W. i wsp. Randomized crossover trial of progenitor-cell mobilization: high-dose cyclophosphamide plus granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus G-CSF. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 1824–1830.
45. Fitoussi O., Perreau V., Boiron J.M. i wsp. A comparison of toxicity following two different doses of cyclophosphamide for mobilization of peripheral blood progenitor cells in 116 multiple myeloma patients. *Bone Marrow Transplant.* 2001; 27: 837–842.

46. Jantunen E., Putkonen M., Nousiainen T. i wsp. Low-dose or intermediate-dose cyclophosphamide plus granulocyte colony-stimulating factor for progenitor cell mobilisation in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31: 347–351.
47. Gupta S., Zhou P., Hassoun H. i wsp. Hematopoietic stem cell mobilization with intravenous melphalan and G-CSF in patients with chemoresponsive multiple myeloma: report of a phase II trial. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 441–447.
48. Desikan K.R., Barlogie B., Jagannath S. i wsp. Comparable engraftment kinetics following peripheral-blood stem-cell infusion mobilized with granulocyte colony-stimulating factor with or without cyclophosphamide in multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16: 1547–1553.
49. Hicks M.L., Lonial S., Langston A. i wsp. Optimizing the timing of chemotherapy for mobilizing autologous blood hematopoietic progenitor cells. *Transfusion* 2007; 47: 629–635.
50. Bargetzi M.J., Passweg J., Baertschi E. i wsp. Mobilization of peripheral blood progenitor cells with vinorelbine and granulocyte colony-stimulating factor in multiple myeloma patients is reliable and cost effective. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31: 99–103.
51. Pusic I., Jiang S.Y., Landua S. i wsp. Impact of mobilization and remobilization strategies on achieving sufficient stem cell yields for autologous transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 1045–1056.
52. Bensinger W., DiPersio J.F., McCarty J.M. Improving stem cell mobilization strategies: future directions. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 43: 181–195.
53. Micallef I.N., Apostolidis J., Rohatiner A.Z. i wsp. Factors which predict unsuccessful mobilisation of peripheral blood progenitor cells following G-CSF alone in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol. J.* 2000; 1: 367–373.
54. Rajkumar S.V., Hayman S.R., Lacy M.Q. i wsp. Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma. *Blood* 2005; 106: 4050–4053.
55. Hosing C., Saliba R.M., Ahlwat S. i wsp. Poor hematopoietic stem cell mobilizers: a single institution study of incidence and risk factors in patients with recurrent or relapsed lymphoma. *Am. J. Hematol.* 2009; 84: 335–337.
56. Pavone V., Gaudio F., Console G. i wsp. Poor mobilization is an independent prognostic factor in patients with malignant lymphomas treated by peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2006; 37: 719–724.
57. Kuittinen T., Nousiainen T., Halonen P. i wsp. Prediction of mobilisation failure in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 33: 907–912.
58. Akhtar S., Weshi A.E., Rahal M. i wsp. Factors affecting autologous peripheral blood stem cell collection in patients with relapsed or refractory diffuse large cell lymphoma and Hodgkin lymphoma: a single institution result of 168 patients. *Leuk. Lymphoma* 2008; 49: 769–778.
59. Takeyama K., Ohto H. PBSC mobilization. *Transf. Apher. Sci.* 2004; 31: 233–243.
60. Schols D., Struyf S., Van Damme J. i wsp. Inhibition of T-tropic HIV strains by selective antagonization of the chemokine receptor CXCR4. *J. Exp. Med.* 1997; 186: 1383–1388.
61. Donzella G.A., Schols D., Lin S.W. i wsp. AMD3100, a small molecule inhibitor of HIV-1 entry via the CXCR4 co-receptor. *Nat. Med.* 1998; 4: 72–77.
62. Bleul C.C., Farzan M., Choe H. i wsp. The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. *Nature* 1996; 382: 829–833.
63. Aiuti A., Webb I.J., Bleul C. i wsp. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood. *J. Exp. Med.* 1997; 185: 111–120.
64. De Clercq E. In search of a selective therapy of viral infections. *Antiviral Res.* 2010; 85: 19–24.
65. Hendrix C.W., Flexner C., MacFarland R.T. i wsp. Pharmacokinetics and safety of AMD-3100, a novel antagonist of the CXCR-4 chemokine receptor, in human volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44: 1667–1673.
66. Liles W.C., Broxmeyer H.E., Rodger E. i wsp. Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Blood* 2003; 102: 2728–2730.
67. Devine S.M., Flomenberg N., Vesole D.H. i wsp. Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 1095–1102.
68. Hubel K., Liles W.C., Broxmeyer H.E. i wsp. Leukocytosis and Mobilization of CD34+ Hematopoietic Progenitor Cells by AMD3100, a CXCR4 Antagonist. *Support Cancer Ther.* 2004; 1: 165–172.
69. Mohty M., Duarte R.F., Croockewit S. i wsp. The role of plerixafor in optimizing peripheral blood stem cell mobilization for autologous stem cell transplantation. *Leukemia* 2011; 25: 1–6.
70. DiPersio J.F., Micallef I.N., Stiff P.J. i wsp. Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 4767–4773.
71. Liles W.C., Rodger E., Broxmeyer H.E. i wsp. Augmented mobilization and collection of CD34+ hematopoietic cells from normal human volunteers stimulated with granulocyte-colony-stimulating factor by single-dose administration of AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Transfusion* 2005; 45: 295–300.
72. Bourhis J.H., Bouko Y., Koscielny S. i wsp. Relapse risk after autologous transplantation in patients with newly diagnosed myeloma is not related with infused tumor cell load and the outcome is not improved by CD34+ cell selection: long term follow-up of an EBMT phase III randomized study. *Haematologica* 2007; 92: 1083–1090.
73. Blystad A.K., Delabie J., Kvaloy S. i wsp. Infused CD34 cell dose, but not tumour cell content of peripheral blood progenitor cell grafts, predicts clinical outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma grade 3 treated with high-dose therapy. *Br. J. Haematol.* 2004; 125: 605–612.
74. Fruehauf S., Ehninger G., Hubel K. i wsp. Mobilization of peripheral blood stem cells for autologous transplant in non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma patients by plerixafor and G-CSF and detection of tumor cell mobilization by PCR in multiple myeloma patients. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 269–275.
75. Tricot G., Cottler-Fox M.H., Calandra G. Safety and efficacy assessment of plerixafor in patients with multiple myeloma proven or predicted to be poor mobilizers, including assessment of tumor cell mobilization. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 63–68.

76. Mozobil (plerixafor injection) full prescribing information. Genzyme Corporation, 2008.
77. DiPersio J.F., Stadtmauer E.A., Nademanee A. i wsp. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood* 2009; 113: 5720–5726.
78. Micallef I.N., Stiff P.J., DiPersio J.F. i wsp. Successful stem cell remobilization using plerixafor (mozobil) plus granulocyte colony-stimulating factor in patients with non-Hodgkin lymphoma: results from the plerixafor NHL phase 3 study rescue protocol. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009; 15: 1578–1586.
79. Food and Drug Administration (FDA). Mozobil. 2008: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2008/ucm116995.htm>
80. European Medicines Agency (EMA). Mozobil. 2009:http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/001030/WC500030687.pdf
81. European Medicines Agency (EMA). EPARs for authorised medicinal products for human use. <http://www.ema.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/mozobil/mozobil.htm>
82. Basak G.W., Knopinska-Posluszny W., Matuszak M. i wsp. Hematopoietic stem cell mobilization with the reversible CXCR4 receptor inhibitor plerixafor (AMD3100) — Polish compassionate use experience. *Ann. Hematol.* 2011; 90: 557–568.
83. Basak G.W., Urbanowska E., Witkowska M. i wsp. CXCR4 inhibitor plerixafor and G-CSF allow for an effective peripheral blood stem cell collection in patients who failed previous mobilization attempt. *Transl. Biomed.* 2010; 1 (1:2).
84. Burgstaler E. The negative effect of high peripheral white blood cell count on CD34+ cell recovery. *J. Clin. Apher.* 2002; 17: 148.
85. Burgstaler E., Winters J. Effects of high whole blood flow rates and high peripheral blood cell counts on CD34+ cell yield and cross-cellular contamination. *Cytotherapy* 2003; 5: 446.
86. Calandra G., McCarty J., McGuirk J. i wsp. AMD3100 plus G-CSF can successfully mobilize CD34+ cells from non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's disease and multiple myeloma patients previously failing mobilization with chemotherapy and/or cytokine treatment: compassionate use data. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41: 331–338.
87. Basak G.W., Jaksic O., Koristek Z. i wsp. Identification of prognostic factors for plerixafor-based hematopoietic stem cell mobilization. *Am. J. Hematol.* 2011; 86: 550–553.
88. Basak G.W., Jaksic O., Koristek Z. i wsp. Haematopoietic stem cell mobilization with plerixafor and G-CSF in patients with multiple myeloma transplanted with autologous stem cells. *Eur. J. Haematol.* 2011; 86: 488–495.
89. Basak G.W., Urbanowska E., Boguradzki P. i wsp. Booster of plerixafor can be successfully used in addition to chemotherapy-based regimen to rescue stem cell mobilization failure. *Ann. Transplant.* 2010; 15: 61–67.
90. Basak G.W., Mikala G., Koristek Z. i wsp. Plerixafor to rescue failing chemotherapy-based stem cell mobilization — it's not too late. *Leuk. Lymphoma* 2011; 52: 1711–1719.
91. Hubel K., Fresen M.M., Salwender H. i wsp. Plerixafor with and without chemotherapy in poor mobilizers: results from the German compassionate use program. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46: 1045–1052.
92. Dugan M.J., Maziarz R.T., Bensinger W.I. i wsp. Safety and preliminary efficacy of plerixafor (Mozobil) in combination with chemotherapy and G-CSF: an open-label, multicenter, exploratory trial in patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma undergoing stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 39–47.
93. Jantunen E., Kuittinen T., Mahlamaki E. i wsp. Efficacy of pre-emptively used plerixafor in patients mobilizing poorly after chemomobilization: a single centre experience. *Eur. J. Haematol.* 2011; 86: 299–304.
94. Basak G.W., Wiktor-Jedrzejczak W., Apperley J.F. i wsp. Higher BMI is not a barrier to stem cell mobilization with standard doses of plerixafor and G-CSF. *Bone Marrow Transplant.* 2011, Oct 10 [artykuł dostępny *on-line*: doi: 10.1038/bmt.2011.199].
95. Hubel K., Fresen M.M., Apperley J.F. i wsp. European data on stem cell mobilization with plerixafor in non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma patients. A subgroup analysis of the European Consortium of stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant.* 2011, Nov 14 [artykuł dostępny *on-line*: doi: 10.1038/bmt.2011.216].
96. Malard F., Kroger N., Gabriel I.H. i wsp. Plerixafor for autologous peripheral blood stem cell mobilization in patients previously treated with fludarabine or lenalidomide. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2012; 18: 314–317.
97. Morris C., Sureda A., Mohty M. i wsp. The EMA-agreed Plerixafor Safety Survey: The EBMT CALM Study. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46: 244.