

David C. Dale

University of Washington, Seattle

Leczenie neutropenii wywołanej chemioterapią przy użyciu czynników stymulujących wzrost kolonii

The colony stimulating factors for the management of chemotherapy-induced neutropenia

Adres do korespondencji:

Professor of Medicine
David C. Dale
University of Washington
Box 356422
Seattle, WA 98195

Streszczenie

Neutropenia jest bez wątpienia najcięższym i obarczonym największym ryzykiem powikłaniem chemioterapii. W połowie lat 60. XX wieku odkryto czynniki stymulujące wzrost kolonii (CSFs, *colony stimulating factors*). Znalazły one zastosowanie w leczeniu nowotworów, przede wszystkim w celu przyspieszenia odnowy szpiku kostnego po chemioterapii, co skraca okres trwania ciężkiej neutropenii i redukuje ryzyko infekcji bakteryjnej i grzybiczej. Najbardziej przekonujące dowody na użycie CSFs w leczeniu nowotworów dotyczą zastosowania tych preparatów w profilaktyce gorączki neutropenicznej po mielotoksycznej chemioterapii. Na początku chemioterapii przeciwnowotworowej, tak dobierano schematy dawek, aby pozwolić na odnowę szpiku kostnego przed kolejną dawką chemioterapii. Jednak, w przypadku zastosowania hematopoetycznych czynników wzrostu, możliwa staje się taka zmiana schematów leczenia, że można zastosować standardowe dawki cytostatyków w schematach przyspieszonych, na przykład w okresach krótszych niż 3 tygodnie. Zastosowanie czynników stymulujących wzrost koloni w profilaktyce neutropenii wywołanej chemioterapią opiera się na zrozumieniu fizjologicznych procesów regulujących produkcję i rozmieszczeniu granulocytów obojętnochłonnych w organizmie w warunkach prawidłowych i w odpowiedzi na infekcję. Dostępność CSFs wyraźnie poprawiła leczenie pacjentów nowotworowych.

Być może kolejne nowości dotyczące zastosowania tych preparatów, będą prowadzić do dalszej poprawy leczenia przeciwnowotworowego w najbliższej przyszłości.

Słowa kluczowe: neutropenia, czynniki stymulujące wzrost kolonii, chemioterapia, gorączka neutropeniczna

Abstract

Neutropenia is without any doubts the most severe and risky side effect of chemotherapy. In the 60-s of the 20 th century the colony stimulating factors (CSFs) were discovered. The principal use of the CSFs in cancer treatment is to accelerate marrow recovery after chemotherapy, thus shortening the duration of severe neutropenia and reducing the risk of bacterial and fungal infections. The strongest evidence for the use of CSFs in cancer treatment is for prevention of febrile neutropenia after myelotoxic chemotherapy. At the beginning of anticancer chemotherapy the the doses were applied to let marrow recovery after each course of treatment. With the development of the hematopoietic growth factors, however, it became possible to compress treatment schedules and give standard doses of chemotherapy agents on an accelerated schedule, i.e., at less than three-week intervals. The use of the colony stimulating factors to prevent chemotherapy-induced neutropenia is based upon the physiological understanding of the regulation of neutrophil production and deployment in the body under normal conditions and in response to infections. The availability of the CSFs has greatly improved our treatment of patients with cancer. It is possible that innovations in the use of these agents will lead to further improvements in cancer treatment soon.

Key words: neutropenia, colony stimulating factors, chemotherapy, febrile neutropenia

Wstęp

Od momentu wprowadzenia w latach 50. XX wieku mielotoksycznej chemioterapii obserwuje się ciągle udoskonalanie metod leczenia chorób nowotworowych. Większość schematów chemioterapii nadal zawiera leki mielotoksyczne, które powodują niedokrwistość, trombocytopenię, leukopenię i neutropenię. Mimo iż inne objawy toksyczności, jak nudności, wymioty, wyłysienie i neuropatia, zdarzają się często, bez wątpienia neutropenia jest powikłaniem najcięższym i obarczonym największym ryzykiem. Ryzyko neutropenii wywołanej przez chemioterapię jest uzależnione przede wszystkim od trzech czynników: 1) wysokiego odsetka szybko proliferujących prekursorów granulocytów obojętnochłonnych (neutrocytów) obecnych w szpiku kostnym, 2) krótkiego okresu trwania neutrocytów w szpiku kostnym i krwi obwodowej, 3) szczególnej roli, jaką pełnią te komórki w obronie przed infekcjami i mikroorganizmami obficie występującymi na wszystkich powierzchniach organizmu [1, 2].

Granulocyt obojętnochłonny

Granulocyty obojętnochłonne stanowią pierwszą linię obrony organizmu przed infekcjami bakteryjnymi i grzybiczymi. Komórki te, aby pełnić swoją podstawową funkcję, mają unikalne i specyficzne cechy. Na przykład, na powierzchni neutrocyta znajdują się specjalne receptory. Na wczesnym etapie rozwoju specyficzne białka adhezyjne, na przykład czynnik 1 komórek wywodzących się z podścieliska (SDF-1, *stromal cell derived factor 1*) [3] i późny antygen 4 (VLA 4, *very late antigen 4*) [4], uczestniczą w utrzymywaniu prekursorów neutrocytów w szpiku kostnym. Na późniejszym etapie rozwoju w szpiku kostnym, neutrocyty nabywają na swojej powierzchni specyficzne receptory, które kierują neutrocyty do ognisk zapalenia, umożliwiając im migrację z krwi do tkanek. Do białek tych należą selektyny, integryny oraz receptory dla chemocytokin [5]. Po opuszczeniu krwi trzecia klasa receptorów pomaga komórkom w fagocytozie bakterii i usuwaniu jej uszkodzonych produktów. Do grupy tej należą receptory dla immunoglobulin, receptory dla układu dopełniacza, białka wiążące endotoksyny i receptory dla czynników wzrostu [6]. Mimo że neutrocyty są w rzeczywistości krótko żyjącymi komórkami, inne receptory na ich powierzchni wpływają na ich długość przeżycia w szpiku kostnym, krwi obwodowej i tkankach [7].

Wytwarzanie granulocytów obojętnochłonnych jest procesem bardzo dynamicznym [8]. Prawie połowę komórek w prawidłowym szpiku kostnym stanowią neutrocyty i ich prekursorzy. Na wytworzenie i różnicowanie neutrocytów, zarówno puli komórek mito-

tycznych, jak i puli komórek pomiotocycznych, organizm potrzebuje zazwyczaj około 10–14 dni. Raz już uwolnione do krwi obwodowej neutrocyty krążą przez okres półtrwania około 6–10 godzin, migrując ostatecznie pomiędzy komórkami endotelialnymi (diapedeza — przyp. red.) do ognisk zapalenia w tkance. W tkankach neutrocyty niszczą bakterie, wykorzystując różne enzymy, które znajdują się w ich pierwotnych i wtórnych ziarnistościach. W skład systemu obrony przeciwbakteryjnej neutrocyta wchodzi mieloperoksydaza, enzym pierwotnych ziarnistości neutrocyta, która w bliskiej obecności patogenów, jakie zainfekowały organizm, katalizuje w fagosomach proces powstawania nadtlenku wodoru, kwasu podchlorynowego i wysoce reaktywnych rodników tlenowych [9]. Szczególną cechą neutrocyta jest jego zdolność do zabijania wielu różnych mikroorganizmów.

Czynniki stymulujące wzrost kolonii

Czynniki stymulujące wzrost kolonii (CSF, *colony stimulating factor*) odkryto w połowie lat 60. XX wieku, a ich nazwy pochodzą od zdolności tych glikoprotein do stymulowania pierwotnych komórek hematopoetycznych do formowania gromad i kolonii dojrzałych komórek hematopoetycznych w hodowlach komórek *in vitro* [10]. Następnie, w latach 80., przy użyciu nowoczesnych technik biologii molekularnej, zidentyfikowano geny dla poszczególnych czynników stymulujących wzrost kolonii i dla celów badań medycznych i leczenia wyprodukowano rekombinowane CSF [11]. Na podstawie wielu badań na zwierzętach oraz z udziałem ludzi ustalono, że wzrost stężenia czynnika stymulującego wzrost kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte colony stimulating factor*) silnie koreluje z infekcjami bakteryjnymi oraz że cytokina ta jest krytycznym czynnikiem wzrostu dla podtrzymania prawidłowego stężenia granulocytów obojętnochłonnych we krwi [12, 13]. Dlatego też G-CSF pełni podobną rolę jak erytropoetyna w podtrzymywaniu liczby krwinek czerwonych, a trombopoetyna w podtrzymywaniu liczby płytek krwi.

Na podstawie badań z udziałem zdrowych ochotników oraz osób chorych zdobyto wiedzę na temat biologicznych efektów CSF. Czynniki stymulujące wzrost kolonii granulocytów jest bardzo silnym czynnikiem uwalniającym dojrzałe neutrocyty ze szpiku kostnego. Pojedyncza dawka G-CSF (5 µg/kg podane podskórnice) powoduje w ciągu 12–24 godzin pięciokrotny wzrost liczby neutrocytów we krwi u osób zdrowych, tj. z około $4,0 \times 10^9/l$ do $20 \times 10^9/l$ [14]. Wielokrotne zastosowanie G-CSF przyspiesza zarówno produkcję granulocytów obojętnochłonnych, jak też tempo przedostawania się ze szpiku kostnego do krwi obwodowej [15]. Czynniki stymulujące kolonie granulocytów i makrofa-

gów (GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*) ma niektóre z tych właściwości, ale słabiej stymuluje uwalnianie neutrocytów i przyspieszanie ich produkcji przez szpik kostny [16]. Kluczowe jest, że leczenie z użyciem G-CSF lub GM-CSF nie osłabia funkcji tych komórek. W rzeczywistości oba preparaty poprawiają wydajność fagocytozy, proces zabijania mikroorganizmów oraz wydłużają czas przeżycia komórek. Ponieważ wiele badań ujawniło, że G-CSF (filgrastim, lenograstim i pegfilgrastim) jest silniejszym czynnikiem wzrostu niż GM-CSF (sargramostim), w praktyce klinicznej częściej stosuje się G-CSF.

Kliniczne zastosowanie CSF w leczeniu neutropenii wywołanej chemioterapią

Czynniki stymulujące wzrost kolonii w leczeniu nowotworów stosuje się przede wszystkim do przyspieszenia odnowy szpiku kostnego po chemioterapii, co skraca okres trwania ciężkiej neutropenii i redukuje ryzyko infekcji bakteryjnej i grzybiczej. Czynniki te wykorzystuje się również, aby umożliwić zebranie hematopoetycznych komórek progenitorowych podczas stosowania wysokodawkowej chemioterapii oraz jako uzupełnienie terapii antybiotykowej w leczeniu gorączki neutropenicznej i infekcji.

Najbardziej przekonujące dowody na użycie CSF w leczeniu nowotworów dotyczą zastosowania tych preparatów w profilaktyce gorączki neutropenicznej po mielotoksycznej chemioterapii. Podstaw dla tej praktyki dostarczyły badania przeprowadzone w wczesnych latach 90. przez Crawforda i wsp. oraz Trillet-Lenoira i wsp. [17, 18]. Randomizowane badanie kontrolne z użyciem placebo ujawniło, że G-CSF/filgrastim zmniejsza częstość gorączki neutropenicznej u pacjentów z rakiem płuca otrzymujących mielotoksyczną chemioterapię w standardowych dawkach. Przyspieszył on wzrost liczby neutrocytów i zmniejszył częstość gorączki neutropenicznej. W czasie leczenia z użyciem G-CSF/filgrastimu zanotowano także mniejszą liczbę potwierdzonych infekcji. Wyniki te potwierdzono w kolejnych randomizowanych badaniach kontrolnych, a zgodność otrzymanych rezultatów przedstawiono w metaanalizie [19]. Mimo że nadal pozostaje wiele pytań dotyczących momentu rozpoczęcia terapii, wielkości dawki, czasu trwania leczenia oraz doboru pacjentów do leczenia profilaktycznego z użyciem G-CSF, istnieje duża zgodność obserwowanych efektów dotyczących wpływu leku na produkcję i rozmieszczenie neutrocytów, a dostępność tego czynnika wzrostu znacząco zmieniła leczenie neutropenii wywołanej chemioterapią.

Pegylowany G-CSF w leczeniu neutropenii wywołanej chemioterapią

Zarówno rekombinowany ludzki G-CSF (filgrastim lub lenograstim), jak i rekombinowany ludzki GM-CSF (sargramostim) są usuwane z organizmu w ciągu kilku godzin po podaniu dożylnym lub podskórnym. Z tego powodu do stymulacji odnowy szpiku kostnego po chemioterapii cytokiny te stosuje się wielokrotnie w ciągu doby. Aby ułatwić podawanie leku, poczyniono kilka modyfikacji molekularnych, które zostały przetestowane w grupach zdrowych ochotników i chorych. Pegylowany G-CSF lub pegfilgrastim jest obecnie badaną na rynku postacią G-CSF, która ze względu na ograniczony klirens nerkowy i dłuższy okres działania jest wygodniejsza w użyciu. Randomizowane badania kontrolne dowiodły skuteczności pegylovanego G-CSF w redukcji czasu trwania ciężkiej neutropenii i profilaktyki gorączki neutropenicznej [20, 21]. Kluczowe badania przeprowadzono wśród pacjentek z rakiem piersi. Chore losowo otrzymywały pojedynczą dawkę pegfilgrastimu lub codziennie filgrastim. Celem badań było porównanie schematu dawkowania opartego na pomiarach masy ciała ze z góry ustalonym dawkowaniem dla osób dorosłych. Badania wykazały, że pojedyncza dawka pegfilgrastimu zastosowana w następnym dniu po ukończeniu cyklu chemioterapii z dokсорubicyną (60 mg/m²) i docetakselem (75 mg/m²) była skuteczna w stymulacji odnowy szpiku kostnego i profilaktyce gorączki neutropenicznej. W dwóch istotnych badaniach zastosowanie jednej dawki pegfilgrastimu w porównaniu z kilkoma dawkami podanymi w ciągu dnia wiązało się z rzadszym występowaniem gorączki neutropenicznej. Ze względu na łatwość stosowania pegfilgrastim zaczęto powszechnie stosować w profilaktyce neutropenii po chemioterapii nowotworu z użyciem różnych schematów cytostatyków.

Dobór pacjentów do profilaktycznego leczenia przy użyciu filgrastimu i pegfilgrastimu

Pierwsze badania, które dowiodły skuteczności G-CSF w profilaktyce neutropenii wywołanej chemioterapią, dotyczyły pacjentów z rakiem płuca otrzymujących leczenie mielosupresyjne związane ze spodziewanym ryzykiem wystąpienia neutropenii wynoszącym około 60% [17, 18]. Zarówno w tym, jak i w innych badaniach największe ryzyko wystąpienia gorączki neutropenicznej występowało podczas pierwszego cyklu chemioterapii. W kluczowych badaniach oceniających skuteczność pegfilgrastimu zastosowano chemioterapię związaną z około 40-procentowym ryzykiem wystąpienia gorączki neutropenicznej u pacjentów nieotrzymujących hematopoetycznych

czynników wzrostu [20, 21]. Niedawno zakończono badania z użyciem schematów chemioterapii o mniejszym ryzyku wystąpienia gorączki neutropenicznej. W badaniu Timmer-Bonte'a i wsp. zastosowano chemioterapię z rzeczywistym ryzykiem wystąpienia gorączki neutropenicznej wynoszącym około 30% [22]. Badanie ujawniło korzyść z dołączenia filgrastimu do antybiotykoterapii w porównaniu z wyłączną profilaktyczną antybiotykoterapią. W innym badaniu Schwartzberg i wsp. wykazali korzyść z zastosowania pegfilgrastimu u pacjentek z rakiem piersi otrzymujących chemioterapię jednolekową (docektaksel 100 mg/m² 4 kursy co 3 tygodnie) [23]. W badaniu tym ryzyko gorączki neutropenicznej wynosiło około 20%, a zastosowanie pegfilgrastimu prawie całkowicie je wyeliminowało. Mimo iż żadne z tych badań nie było dostatecznie duże, aby pokazać wpływ zastosowania G-CSF na profilaktykę zgonów wywołanych neutropenią i czasu przeżycia całkowitego, wyraźnie pokazują one korzyść w zakresie profilaktyki gorączki neutropenicznej, antybiotykoterapii i hospitalizacji oraz utrzymania rozpoczętych schematów leczenia.

Postęp w leczeniu nowotworów przy wykorzystaniu CSF

Badania dotyczące adiuwantowej chemioterapii u chorych na raka piersi przeprowadzone przez Bonadonna i wsp. dostarczają najlepszych dowodów dla stosowania pełnodawkowej lub standardowej chemioterapii [24]. Badania te, z okresem obserwacji wynoszącym 20 lat, wyraźnie pokazują, że czas do nawrotu choroby i czas przeżycia całkowitego były dłuższe w przypadku zastosowania schematu CMF (cyklofosamid, metotreksat, 5-fluorouracyl — przyp. red.), jeżeli zastosowano 85% lub więcej wstępnie planowanej dawki. Inne badania potwierdziły te doniesienia. Dlatego też jednym z najbardziej pożądanym celów w poprawie chemioterapii nowotworów jest podanie jak największej liczbie pacjentów w pełni skutecznych dawek w leczeniu ich nowotworów. Jednak analiza praktyki stosowanej w Stanach Zjednoczonych ujawniła, że wysoki odsetek osób chorych na raka piersi i chłoniaki niezłośliwe — dwie choroby dobrze znane jako chemiowrażliwe — nie otrzymuje pełnych dawek [25, 26]. Powody podawania niepełnych dawek nie są w pełni zrozumiałe. Powszechnie występującą zasadą jest redukcja dawek u starszych pacjentów oraz u tych, u których w trakcie leczenia rozwinie się neutropenia, gorączka neutropeniczna lub inne powikłania. Dlatego też ważnym elementem poprawy chemioterapii jest zdefiniowanie czynników ograniczających leczenie pacjentów i próba eliminowania tych przeszkód.

Inną potencjalną przeszkodą w dostatecznym leczeniu nowotworów jest długość okresu pomiędzy kolejnymi cyklami leczenia przeciwnowotworowego. Na początku che-

mioterapii przeciwnowotworowej tak dobierano schematy dawek, aby pozwolić na odnowę szpiku kostnego przed kolejną dawką chemioterapii. Jednak w przypadku zastosowania hematopoetycznych czynników wzrostu możliwe staje się „zacieśnienie” schematów leczenia i zastosowanie standardowych dawek cytostatyków w schematach przyspieszonych, na przykład w okresach krótszych niż 3 tygodnie. Niedawno Norton i wsp. nowatorsko zastosowali u chorych na raka piersi chemioterapię adiuwantową z 2-tygodniowymi przerwami między kolejnymi kursami i uzyskali wydłużenie czasu wolnego od choroby i czasu przeżycia całkowitego u pacjentek otrzymujących chemioterapię co 2 tygodnie z jednoczesnym stosowaniem G-CSF/filgrastimu w celu przyspieszenia odnowy szpiku kostnego po każdym cyklu leczenia [27]. Wiele nadal trwających badań ocenia skojarzenie przyspieszonej chemioterapii z filgrastimem lub pegfilgrastimem w profilaktyce neutropenii i związanych z nią powikłań.

Czynniki wpływające na wystąpienie neutropenii wywołanej chemioterapią

Z powodu ceny rekombinowanych ludzkich hematopoetycznych czynników wzrostu wielu badaczy stara się znaleźć sposób, aby ograniczyć ich zastosowanie do wybranych pacjentów. Jedną ze strategii polega na pomiarze liczby neutrocytów po pierwszym cyklu chemioterapii, tak aby zdefiniować pacjentów z największym ryzykiem supresji szpiku kostnego i ciężkiej neutropenii mogących wystąpić w kolejnych cyklach chemioterapii. Mimo że metoda ta jest przydatna do określenia pacjentów z podwyższonym ryzykiem, nadal istnieje ryzyko wystąpienia neutropenii wywołanej chemioterapią podczas pierwszego cyklu leczenia. Ostatnie badania wyraźnie pokazują, że największe ryzyko neutropenii wywołanej chemioterapią i ciężkich powikłań występuje podczas pierwszego cyklu leczenia, szczególnie wśród starszych pacjentów. Biorąc pod uwagę znaczne ryzyko gorączki, ciężkich infekcji bakteryjnych, a nawet śmierci, istnieje duże niebezpieczeństwo związane z samym leczeniem chemioterapeutycznym.

Inna strategia polega na zidentyfikowaniu pacjentów charakteryzujących się podwyższonym ryzykiem na podstawie charakterystycznych cech demograficznych i klinicznych. Wyniki ostatnich badań wyraźnie określają podstawowe czynniki ryzyka: zaawansowany wiek, zaawansowane stadium choroby, zły stan sprawności, zły stan odżywienia i wcześniej występująca neutropenia [28]. Są to uznane kliniczne wskaźniki pacjentów z ryzykiem neutropenii i związanych z nią powikłań. U pacjentów z jakimkolwiek czynnikiem ryzyka istnieje większe prawdopodobieństwo rozwoju neutropenii, gorączki neutropenicznej, opóźnienia kolejnej dawki chemio-

terapii lub poważnego powikłania infekcyjnego. We współpracy z narodowymi i międzynarodowymi organizacjami trwają badania nad poprawą algorytmów i wskazań dotyczących użycia CSF [29].

Podsumowanie

Zastosowanie czynników stymulujących wzrost kolonii w profilaktyce neutropenii wywołanej chemioterapią opiera się na zrozumieniu fizjologicznych procesów regulujących produkcję i rozmieszczenie granulocytów obojętnochłonnych w organizmie w prawidłowych warunkach i w odpowiedzi na infekcję. Randomizowane badania kontrolne wykazały, że G-CSF (filgrastim lub lenograstim) są skuteczne w przyspieszeniu odnowy szpiku kostnego po chemioterapii w standardowych dawkach, profilaktyce gorączki neutropenicznej oraz innych powikłań związanych z neutropenią. Leczenie z użyciem pegylowanego G-CSF jest wygodniejsze i jednakowo skuteczne. Prowadzone są badania prospektywne, aby zdefiniować najbardziej właściwe wskazania do zastosowania CSF w profilaktyce powikłań związanych z neutropenią wywołaną przez chemioterapię. Obecne dowody wyraźnie wskazują na łatwo rozpoznawalne czynniki, które predysponują do wystąpienia powikłań związanych z neutropenią, takie jak: zaawansowany wiek, zaawansowane stadium choroby, zły stan sprawności, zły stan odżywienia i występująca wcześniej neutropenia. Dostępność CSF wyraźnie poprawiła leczenie pacjentów nowotworowych. Można oczekiwać kolejnych innowacji dotyczących zastosowania tych preparatów, co będzie prowadzić do dalszej poprawy jakości terapii przeciwnowotworowej.

Piśmiennictwo

- Dale D.C. Nonmalignant Disorders of Leukocytes. Scientific American® Medicine. Dale D.C., Federman D.D., New York 2003; 1086–1101.
- Dale D.C. Colony-stimulating factors for the management of neutropenia in cancer patients. *Drugs* 2002; 62: 1–15.
- Lapidot T., Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Exp. Hematol.* 2002; 30: 973–981.
- Papayannopoulou T., Priestly G.V., Bonig H., Nakamoto B. The role of G-protein signaling in hematopoietic stem/progenitor cell mobilization. *Blood* 2003; 101: 4739–4747.
- Reutershan J., Ley K. Bench-to-bedside review: acute respiratory distress syndrome-how neutrophils migrate into the lung. *Crit. Care.* 2004; 8: 453–461.
- Miller S.I., Ernst R.K., Bader M.W. LPS, TLR4 and infectious disease diversity. *Nat. Rev. Microbiol.* 2005; 3: 36–46.
- Akgul C., Moulding D.A., Edwards S.W. Molecular control of neutrophil apoptosis. *FEBS Lett.* 2001; 487: 318–322.
- Dale D.C., Liles W.C. Neutrophils and monocytes: Normal physiology and disorders of neutrophil and monocyte production. *Blood: Principles and Practice of Hematology.* Handin R.I., Lux S.E., Stossel T.P., Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia 2003; 455–482.
- Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 2; [Epub ahead of print].
- Metcalfe D. The molecular control of granulocytes and macrophages. *Ciba Found Symp.* 1997; 204: 40–50.
- Dale D.C. The Discovery, Development and Clinical Applications of Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association* 1998; 109: 27–38.
- Hammond W.P., Csiba E., Canin A., Souza L.M., Dale D.C. Chronic neutropenia: A new canine model induced by human G-CSF. *J. Clin. Invest.* 1991; 87: 704–710.
- Lieschke G.J. CSF-deficient mice-what have they taught us? *Ciba Found Symp.* 1997; 204: 60–74.
- Chatta G.S., Price T.H., Allen R.C., Dale D.C. The effects of in vivo recombinant methionyl human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) on the neutrophil response and peripheral blood colony-forming cells in healthy young and elderly volunteers. *Blood* 1994; 84: 2923–2929.
- Price T.H., Chatta G.S., Dale D.C. The effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on neutrophil kinetics in normal young and elderly humans. *Blood* 1996; 88: 335–340.
- Dale D.C., Liles W.C., Llewellyn C., Price T.H. The effects of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on neutrophil kinetics and function in normal human volunteers. *Am. J. Hematol.* 1998; 57: 7–15.
- Crawford J., Ozer H., Stoller R. i wsp. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325: 164–170.
- Trillet-Lenoir V., Green J., Manegold C. i wsp. Recombinant granulocyte colony stimulating factor in the treatment of small cell lung cancer: a long-term follow-up. *Eur. J. Cancer* 1995; 31: 2115–2116.
- Lyman G.H., Kuderer N.M., Djulbegovic B. Prophylactic granulocyte colony stimulating factor in patient receiving dose-intensive cancer chemotherapy: a meta-analysis. *Am. J. Med.* 2002; 112: 406–411.
- Green M.D., Koelbl H., Baselga J. i wsp. International Pegfilgrastim 749 Study Group. A randomized double-blind multicenter phase III study of fixed-dose single-administration pegfilgrastim versus daily filgrastim in patients receiving myelosuppressive chemotherapy. *Ann. Oncol.* 2003; 14: 29–35.
- Holmes F.A., O'Shaughnessy J.A., Vukelja S. i wsp. Blinded, randomized, multicenter study to evaluate single administration pegfilgrastim once per cycle versus daily filgrastim as an adjunct to chemotherapy in patients with high-risk stage II or stage III/IV breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 727–731.
- Timmer-Bonte J., Biesma B., Smit J. i wsp. Prevention of chemotherapy-induced febrile neutropenia (FN) by antibiotics (AB) versus antibiotics plus granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) in small cell lung cancer (SCLC): a randomised phase III study (...) Complete presentation available at <http://www.asco.org>
- Vogel C.L., Wojtukiewicz M.Z., Carroll R.R. i wsp. First and subsequent cycle use of pegfilgrastim prevents febrile neutropenia in patients with breast cancer: a multicenter, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J. Clin. Oncol.* 2005 20; 23 (6): 1178–1184.
- Bonadonna G., Moliterni A., Zambetti M., Daidone M.G., Pilotti S., Gianni L., Valagussa P. 30 years' follow up of randomized studies of adjuvant CMF in operable breast cancer: cohort study. *BMJ* 2005; 330: 217.
- Lyman G.H., Dale D.C., Friedberg J., Crawford J., Fisher R.I. Incidence and predictors of low chemotherapy dose-intensity in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a nationwide study. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 4302–4311.
- Lyman G.H., Dale D.C., Crawford J. Incidence and predictors of low dose-intensity in adjuvant breast cancer chemotherapy: a nationwide study of community practices. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 4524–4531.
- Citron M.L., Berry D.A., Cirrincione C. i wsp. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as post operative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 1431–1439.
- Lyman G.H., Morrison V.A., Dale D.C., Crawford J., Delgado D.J., Fridman M. Risk of febrile neutropenia (FN) among patients with intermediate-grade non-Hodgkin's lymphoma receiving CHOP chemotherapy. *Leuk. Lymphoma* 2003; 44: 2069–2076.
- Crawford J., Dale D.C., Lyman G.H. Chemotherapy-induced neutropenia: risks, consequences, and new directions for its management. *Cancer* 2004; 100: 228–237.