

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Marko Matašin

**Čimbenici koji utječu na mobilizaciju perifernih krvotvornih matičnih
stanica kod bolesnika s limfomom i multiplim mijelomom**

Diplomski rad



Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za internu medicinu Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Dubrava, pod vodstvom prof. dr. sc. Ozrena Jakšića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2015./2016.

POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA:

| | | |
|--------|---|---|
| AL | – | Akutna leukemija |
| ALL | – | Akutna limfocitna leukemija |
| AML | – | Akutna mijeloična leukemija |
| ATKMS | – | Autologna transplantacija krvotvornih matičnih stanica (prema engl. autologous haematopoietic stem cell transplantation) |
| CVK | – | Centralni venski kateter |
| G | – | Mobilizacija faktorima rasta - filgrastim („Steady state“) |
| G-CSF | – | Čimbenik rasta granulocitnih kolonija (prema engl. granulocyte colony stimulating factor) |
| G/C | – | Kemomobilizacija (kemoterapija + faktori rasta - filgrastim) |
| G/C+P | – | Kemomobilizacija (kemoterapija + faktori rasta - filgrastim + pleriksafor) |
| G/P | – | Mobilizacija faktorima rasta – filgrastim + pleriksafor |
| KS | – | Koštana srž |
| LG-NHL | – | Non-Hodgkinov limfom niskog gradusa |
| MH | – | Hodgkinova bolest |
| MM | – | Multipli mijelom |
| NHL | – | Non-Hodgkinov limfom |
| pegG | – | Mobilizacija faktorima rasta – pegfilgrastim |
| pegG/C | – | Kemomobilizacija (kemoterapija + faktori rasta - pegfilgrastim) |
| PK | – | Periferna krv |
| PKMS | – | Periferne krvotvorne matične stanice |
| SDF-1 | – | Čimbenik stanične strome 1 |

(prema engl. stromal derived factor 1)

VAD – Protokol kemoterapije: vinkristin + doksorubicin + deksametazon

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. SAŽETAK | |
| 2. SUMMARY | |
| 3. UVOD..... | 1 |
| 3.1 IZVOR KRVOTVORNIH MATIČNI STANICA..... | 1 |
| 3.2. INDIKACIJE..... | 3 |
| 3.2.1. Limfomi..... | 3 |
| 3.2.2. Multipli mijelom..... | 3 |
| 3.3. MOBILIZACIJA..... | 3 |
| 3.3.1. „Steady-state“ mobilizacija..... | 5 |
| 3.3.2. Kemomobilizacija..... | 6 |
| 3.3.3. Pleriksofor..... | 8 |
| 3.4. LEUKAFERIZA..... | 9 |
| 3.5. USPJEH I ISHOD MOBILIZACIJE..... | 10 |
| 3.6. NEUSPJEH MOBILIZACIJE..... | 11 |
| 4. HIPOTEZA..... | 14 |
| 5. CILJEVI RADA..... | 15 |
| 6. ISPITANICI I METODE..... | 16 |

| | |
|---|----|
| 7. REZULTATI..... | 18 |
| 7.1. OBILJEŽJA BOLESNI- | |
| KA..... | 19 |
| 7.2. STATISTIČKA OBRA- | |
| DA..... | 21 |
| 8. RASPRAVA..... | 27 |
| 9. ZAKLJUČCI..... | 32 |
| 10. LITERATURA..... | 33 |
| 11. ZAHVALE..... | 40 |
| 12. ŽIVOTOPIS..... | 41 |

1. SAŽETAK

Intenzivna kemoterapija uz potporu autologne transplantacije krvotvornih matičnih stanica dobro je utvrđena terapijska opcija u liječenju hematoloških maligniteta, uključujući multipli mijelom i limfom. Za provođenje autologne transplantacije potreban je adekvatan broj perifernih krvotvornih matičnih stanica. Kako se one fiziološki u perifernoj krvi ne nalaze u dovoljnoj količini, potrebno je potaknuti prelazak dodatnog broja matičnih stanica iz koštane srži u perifernu krv. Taj postupak se naziva mobilizacijom krvotvornih matičnih stanica. Ona se danas kod većine bolesnika provodi jednim od dvaju standardnih protokola – kemomobilizacijom ili mobilizacijom faktorima rasta („steady-state“), a kod odabrane skupine bolesnika koji slabo mobiliziraju matične stanice uz dodatnu primjenu novog mobilizacijskog lijeka pleriksafora.

Mobilizacija može biti otežana činjenicom da su bolesnici često prethodno podvrgnuti modalitetima terapije koji smanjuju sposobnost mobiliziranja matičnih stanica, kao i konstitucijskim čimbenicima koji otežavaju mobilizaciju. Mnogobrojne studije su identificirale najvažnije negativne prediktore u koje ubrajamo: dob, spol, dijagnozu, dulje vrijeme od postavljene dijagnoze, zahvaćenost koštane srži, radioterapiju, dulje vrijeme od posljednje kemoterapije do mobilizacije, veći broj prethodnih terapijskih linija, prethodne autologne transplantacije, fludarabin, melfalan, lenalidomid, alkilirajuće agense, kemoterapeutike bazirani na platini, leukopeniju, trombocitopeniju. Stoga je za kliničare veoma bitno prepoznati bolesnike iz rizične skupine kako bi pravovremenom intervencijom spriječio mogući neuspjeh mobilizacije kako bi osigurali najbolji tretman za bolesnika uz minimiziranje troškova ove skupocjene procedure.

Ova restrospektivna analiza uključila je bolesnike kojima je učinjena mobilizacija i prikupljanje perifernih krvotvornih matičnih stanica kao priprema za visokodoznu kemoterapiju i autolognu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica u liječenju limfoma i multiplog mijeloma. Pacijenti su liječeni na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Dubrava, u razdoblju od 2007. do 2016. godine. Na uzorku od 133 pacijenta koji su podvrgnuti 144 postupaka mobilizacije su istražene značajke samih pacijenata, prethodne terapije i intramobilizacijski faktori koji predviđaju uspjeh postupka te su dobiveni rezultati uspoređeni s podacima iz do sada publiciranih radova.

Ključne riječi: mobilizacija, matične stanice, limfom, multipli mijelom.

2. SUMMARY

High dose chemotherapy with the support of autologous haematopoietic stem cell transplantation is a well established treatment course in therapy of haematologic malignancies, including multiple myeloma and lymphoma. It is needed to collect an adequate amount of haematopoietic stem cells in order to commence autologous stem cell transplantation procedure. Since the number of these cells in the periphery bloodstream is physiologically not high enough, a procedure is needed to stimulate the translocation of additional stem cells from the bone marrow into the periphery blood. This procedure is called haematopoietic stem stem cell mobilization. In today's practices it is done with one of two standard approaches for most of the patients – with chemomobilization or mobilization by growth factors („steady-state“), and in selected group of patients called who mobilize stem cells poorly with additional help of a novel mobilization agent plerixafor.

Mobilization can be complicated by the fact that patients undergoing it often have a history of mobilization impairing therapy, as well as constitutional factors which reflect negatively on ability to mobilize stem cells. Numerous studies have identified relevant negative predictors which include: age, sex, diagnosis, longer time since diagnosis, bone marrow involvement, radiotherapy, longer time since last chemotherapy to mobilization, numerous lines of chemotherapy, previous autologous haematopoietic stem cell transplantation, fludarabine, melphalan, lenalidomide, use of alkylating agents, platinum based chemotherapy, leukopenia, thrombocytopenia. Thus it is very important for the clinician to recognize a patient belonging the high-risk group so he could apply a timely intervention which will not only provide the best possible benefit for the patient, but also minimize the price of this costly procedure.

This retrospective analysis includes patients which have been subjects to haematopoietic stem cell mobilization and apheresis as a part of high dose chemotherapy and autologous haematopoietic stem cell transplantation treatment course in lymphoma and multiple myeloma therapy. Patient were treated in the Hematology department of Internal medicine clinic of University hospital Dubrava during the period between year 2007. and 2016. In a sample of 133 patients undergoing 144 mobilization procedures we have investigated patient characteristics, previous therapy and intramobilization factors which predict successfulness of the procedure and we compared our results to available published data.

Key words: mobilization, stem cells, lymphoma, multiple myeloma.

3. UVOD

Veliki broj hematoloških malignih bolesti danas se liječi visokodoznom kemoterapijom, uključujući multipli mijelom i maligne limfome (Hodgkinov limfom i ne-Hodgkinove limfome). Kako bi se nadvladalo rezistenciju ovih tumora i dovelo do izlječenja, doze kemoterapeutika koje se koriste u ovakvim intenzivnim režimima liječenja dosežu razine koje su toksične za koštanu srž, tj. djeluju mijeloablativno i tako ireverzibilno uništavaju krvotvornu funkciju koštane srži. Stoga je u ovaj postupak potrebno uvesti metodu spašavanja krvotvorne funkcije koštane srži. To se postiže autolognom transplantacijom krvotvornih matični stanica (KMS), prikupljenih od bolesnika prije potencijalno letalne kemoterapije. Iako niti kemoterapija spregnuta s ATKMS ne uspijeva često izliječiti bolest (stupanj izlječenja ovisi o entitetu), ovaj postupak ipak dovodi do značajnog produljenja preživljenja bolesnika, kao i produljenja razdoblja bez progresije bolesti. Ako usporedimo ovakav terapijski protokol s konvencionalnom kemoterapijom, on rezultira većom stopom odgovora na terapiju, duljim ukupnim preživljavanjem, kao i duljim preživljavanjem bez progresije bolesti. Istraživanja o liječenju multiplog mijeloma govore o značajnom poboljšanju stope potpunog odgovora na terapiju u skupini pacijenata liječenoj intenzivnom kemoterapijom naspram grupe liječene konvencionalnom metodom (44 posto prema 8 posto), odnosno manjoj stopi minimalnog odgovora na terapiju (3 posto prema 18 posto). (Child et al., 2003) Isto istraživanje potvrđuje i produljenje medijana preživljenja za gotovo čitavu godinu (54.1 mjeseci naspram 42.3 mjeseca), kao i to da postoji trend još većeg doprinosa visokodozne kemoterapije preživljenju bolesnika u slučajevima sa osobito lošom prognozom. Usporediv napredak u liječenju postignut je i u liječenju limfoma. Istraživanja govore o značajno višem petogodišnjem preživljenju bez progresije bolesti (55 posto prema 35 posto) kao i o značajno većem ukupnom petogodišnjem preživljenju (74 posto prema 44 posto) bolesnika liječenih intenzivnom kemoterapijom uz autolognu trasplantaciju krvotvornih matičnih stanica. (Milpied et al., 2004)

3.1. IZVOR KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA

Više kliničkih istraživanja pokazalo je prednosti mobiliziranih perifernih krvotvornih stanica (PKMS) nad koštanom srži (KS) kao izvorom matičnih stanica za ATKMS u odraslih bolesnika. Uspoređujući te dvije metode dobivanja KMS, utvrđeno je da primjena mobiliziranih PKMS dovodi do bržeg oporavka hematopoeze (engl. engraftment), manjeg

broj potrebnih transfuzija krvnih pripravaka te kraće duljinu hospitalizacije (studija Schmitz et al. na bolesnicima s dijagnozom NHL govori o tjedana dana kraćem razdoblju hospitalizacije), što za krajnji rezultat predstavlja potencijalno bolji klinički ishod za bolesnika. Osim toga, zbog značajki procedure prikupljanja PKMS, kao što je izostanak potrebe za općom anestezijom, ali i boli koju uzrokuje postupak prikupljanja stanica iz KS, prikupljanje PKMS predstavlja puno ugodniji i jednostavniji postupak u usporedbi s prikupljanjem matičnih stanica iz KS. Stoga su je logično što su mobilizirane PKMS gotovo u potpunosti istisnule koštanu srž kao izvor matičnih stanica. (Lenhoff et al. 2000, Schmitz et al. 1996, Björkstrand et al. 1996).

Tablica 1. Prednosti i nedostaci metoda prikupljanja KMS

| METODA PRIKUPLJANJA | PREDNOSTI | NEDOSTATCI |
|---------------------|--|---|
| KOŠTANA SRŽ | <ul style="list-style-type: none"> • Potreban jedan postupak prikupljanja • Ne traži postavljanje posebnih katetera • Nije nužna uporaba citokina | <ul style="list-style-type: none"> • Potrebna opća anestezija • Sporiji oporavak funkcije koštane srži • Više stope morbiditeta i mortaliteta • Potencijalno veća kontaminacija pripravka tumorskim stanicama |
| PERIFERNA KRV | <ul style="list-style-type: none"> • Nije potrebna opća anestezija • Može se provoditi ambulantno • Brži oporavak krvotvorne funkcije koštane srži • Manji morbiditet i mortalitet • Potencijalno manja kontaminacija pripravka tumorskim stanicama | <ul style="list-style-type: none"> • Prikupljanje može potrajati nekoliko dana • Ponekad potrebno postavljanje dvolumenskih katetera velikog kalibra • Krvarenje, embolizam i infekcija kao moguće komplikacije vezane uz postavljanje CVK |

3.2. INDIKACIJE

3.2.1. Limfomi

Indikacije za ATKMS kod limfoma razlikuju se za Hodgkinov i non-Hodgkinov limfom, kao i za pojedine patohistološke podvrste NHL. Hodgkinov limfom. Kod Hodgkinove bolesti transplantacija se provodi u kemosenzitivnih bolesnika koji su refraktorni na primarnu kemoterapiju ili kod kojih dođe do relapsa nakon primarne kemoterapije. ATKMS nije preporučena kao dio primarne terapije za MH. Agresivni NHL uključujući difuzni velikostanični limfom B-stanica i agresivni limfom T-stanica. ATKMS je preporučena terapijska opcija u kemosenzitivnih pacijenata koji su refraktorni na primarnu kemoterapiju ili kod kojih dođe do relapsa nakon primarne kemoterapije. Folikularni limom. ATKMS je terapijska opcija kod odabranih bolesnika s lošom prognozom folikularnog limfoma koji progredira nakon druge terapijske linije. Burkittov limfom. ATKMS je terapijska opcija kod odabranih bolesnika s Burkittovim limfomom nakon prve remisije. Limfom plaštenih stanica. ATKMS je opcija kod odabranih bolesnika s limfomom plaštenih stanica u prvoj remisiji. (Koroukis et al. 2013.)

3.2.2. Multipli mijelom

Autologna transplantacija krvotvornih matičnih stanica smatra se zlatnim standardom terapije kod mladih bolesnika (mlađi od 70 godina) s novodijagnosticiranim multiplim mijelomom. Transplantacija može biti učinjena kao terapija kod inicijalne dijagnoze ili kod relapsa bolesti. (Bruno et al. 2016)

3.3 MOBILIZACIJA

U fiziološkim uvjetima u cirkulaciji se nalazi tek neznatan broj krvotvornih matičnih stanica, koje nakon napuštanja koštane srži jedno vrijeme cirkuliraju krvotokom da bi se konačno vratile natrag u ishodišni „organ“. Taj broj cirkulirajućih matičnih stanica je daleko ispod dovoljne količine za efikasno prikupljanje, stoga je postupak regrutiranja te skupine stanica iz KS u perifernu krv (PK) esencijalan postupak u ATKMS. Navedeni postupak nazivamo „mobilizacijom“. To je ustvari metoda kojom se imitira pojačano otpuštanje matičnih stanica (i drugih preteča zrelih krvnim stanicama) do kojeg dolazi kao tijekom

stresnih stanja za organizam. Primjerice, brz ali prolazan porast broj KMS u krvi bilježi se nakon teže fizičke aktivnosti, mijelosupresivne kemoterapije, primjene polianiona (fukoidani, dekstran sulfat, polimetakrilna kiselina, defibrotid), primjene kemokina (antagonisti CCL3, CXCL2, CXCL8, CXCL12, CXCR4), primjene adrenokortikotropnog hormona, primjene toksina (pertussis toksin, bakterijski endotoksin) i krvotvornih faktora rasta (G-CSF, pegilirani G-CSF, KIT ligand, IL-3, GM-CSF, trombopoetin, hormon rasta, eritropoetin, VEGF, angiopoetin-1). (Winkler et al. 2006)

Na staničnoj razini mobilizacija se odvija kroz više molekularnih procesa koji utječu na mikrookolje KMS. Jednim dijelom dolazi do aktivacije neutrofila uz otpuštanje proteaza. Neutrofilija uvijek prethodi mobilizaciji KMS i stupanj neutrofilije predviđa jačinu mobilizacije. Dolazi do ekspanzije broja, aktivacije i degranulacije neutrofila unutar koštane srži i otpuštanja raznih enzima, uključujući elastazu, katepsin G i matriks metaloproteinaza-9 iz neutrofilnih granula. Ove proteaze prekidaju interakciju između adhezijskih molekula (CXCL12, CXCR4 i VCAM-1) izraženih na površini matičnih stanica i staničnog okoliša i tako omogućuju izlazak matičnih stanica iz koštane srži. Na sličan način djeluje G-CSF, najčešće korišteni agens za mobilizaciju KMS. On stimulira ekspanziju i aktivaciju mijeloidnih i granulocitnih prastanica u koštanoj srži, čime se povećava broj zrelih granulocita (neutrofila) u perifernoj krvi. Oni otpuštaju veliku količinu neutrofilnih serinskih proteaza koje cijepaju međustanične veze i omogućuju mobilizaciju KMS. G-CSF također izaziva i inhibiciju funkcije osteoblasta (što se smatra odgovornim za bolove u kostima nakon uporabe G-CSF). Temelj djelovanje kemoterapije u mobilizaciji je oštećenje koštane srži, tj. indukcija aplazije, nakon čega slijedi oporavak hematopoeze u okvirnom roku od 8 do 10 dana. Smatra se da konkomitantna uporaba kemoterapije i G-CSF-a stvara i sinergistički učinak na otpuštanje proteaza u koštanoj srži, kao i na smanjenje aktivnosti inhibitora serinskih proteaza (inhibitora neutrofilnih serinskih proteaza, tzv. „serpina“), koji bi inače potiskivali proteolitičku aktivnost enzima otpuštenih iz neutrofila. Možemo zaključiti da su ciklus ekspanzija-aktivacija-degranulacija neutrofila unutar koštane srži i pomak ravnoteže proteoliza-antiproteoliza u koštanoj srži zajednički koraci u svim protokolima mobilizacije. (Winkler et al. 2006, Greenbaum et al. 2010, Nervi et al. 2006)

Kliničke metode mobilizacije najčešće se provode jednim od dva danas široko prihvaćena protokola mobilizacije. Prvi je uporabom faktora rasta čimbenika stimulacije granulocitnih kolonija (G-CSF), dok druga metoda uključuje sekvencijalnu uporabu kemoterapije i faktora rasta. Pri tome se matične stanice prikupljaju leukaferezom nakon

četverodnevne ili petodnevne primjene faktora rasta, odnosno tijekom faze hematološkog oporavka nakon primjene mobilizacijske kemoterapije i faktora rasta. Međutim, kinetika koncentracije CD34+ stanica u perifernoj krvi (neizravni biomarker koncentracije matičnih stanica u perifernoj krvi) varira kako između pojedinačnih pacijenata, tako i između različitih režima mobilizacije. Predloženi faktori za početak leukafereze jesu broj leukocita u perifernoj krvi, broj mononuklearnih stanica u perifernoj krvi, broj trombocita i broj CD34+ stanica. U kliničkoj praksi najpouzdanijom varijablom pokazala se vrijednost CD34+ stanica, pri čemu vrijednosti koncentracije CD34+ moraju iznositi 10 - 20 x 10⁶ / L kako bi se pristupilo postupku afereze.

3.3.1. „Steady-state“ mobilizacija

Mobilizaciju korištenjem samo G-CSF-a kao mobilizacijskog agensa nazivamo „steady-state“ mobilizacijom. Mehanizam kojim G-CSF uzrokuje porast broja KMS u PK jest indukcija hiperplazije koštane srži koja dovodi do otpuštanja hematopoetskih matičnih stanica u cirkulaciju. Pripravci koji su dostupni za uporabu u kliničkoj praksi dva su podjednako korisna analoga G-CSF-a, filgrastim i lenograstim, te pegilirana dugodjelujuća varijanta filgrastima pegfilgrastim. Nekada korišteni faktor rasta GM-CSF (sargramostim) pokazao se inferioran G-CSF-u te više nije dostupan u mnogim zemljama. (Mohty et al. 2014, Duong et al. 2014).

Tablica 2. Karakteristike „steady state“ mobilizacije filgrastimom ili lenograstimom

| PREDNOSTI | NEDOSTATCI |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Niska toksičnost • Moguća ambulantna primjena • Moguća samoprimjena • Efikasan u većine bolesnika • Predvidljiva mobilizacija, omogućava lako planiranje afereze • Kraće vrijeme od primjene do afereze u usporedbi s kemomobilizacijom | <ul style="list-style-type: none"> • Bol u kostima • Manji prinos matičnih stanica u usporedbi s kemomobilizacijom |

Filgrastim se aplicira u dnevnoj dozi od 10 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{dan}$ kao jedna supkutana injekcija 5 do 7 uzastopnih dana dok se lenograstim primjenjuje 4 do 6 dana. Budući da uporabom „steady-state“ mobilizacije broj CD34+ stanica u PK doseže zenit između 4. i 6. dana od početka primjene, nadzor nad tom vrijednošću trebao bi započeti 4. ili 5. dan protokola. Leukafereza se učini 5. ili 6. dan primjene (filgrastim), odnosno između 5. i 7. dana (lenograstim). Također, sve više podataka govori u prilog uspješnosti 12 mg pegfilgrastima kao jedne supkutane doze. Međutim, pegfilgrastim još nije široko prihvaćen od transplantacijskih centara, što se može pripisati uhodanoj i pouzdanoj uporabi G-CSF-a i cijeni preparata (Mohty et al. 2014, Duong et al. 2014).



Slika 1. Steady-state mobilizacija

Iako se mobilizacija i prikupljanja KMS “ steady-state“ protokolom jako dobro tolerira, problem leži u činjenici da se kod signifikantne proporcije na ovaj način mobiliziranih pacijenata ne uspijeva prikupiti dovoljan broj CD34+ stanica koje bi podržale ATKMS.

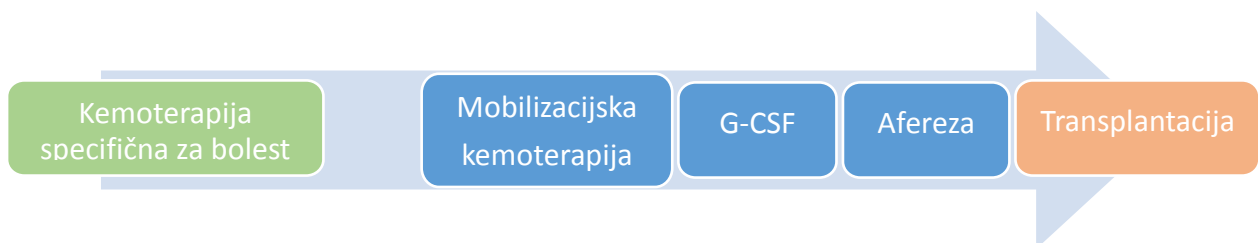
3.3.2 Kemomobilizacija

Problemu nedostatne mobilizacije „steady stateom“ doskočilo se uvođenjem preparatorne kemoterapije u protokol mobilizacije, tj. uporabom G-CSF-a spregnutog s prethodećom kemoterapijom (G/C) – postupak koji nazivamo kemomobilizacijom. U usporedbi sa steady-state mobilizacijom, kemomobilizacija (G/C) ostvaruje prednosti u smislu signifikantno veće vjerojatnosti osiguravanja optimalnog broja CD34+ stanica u PK pacijenta i u pripravku, uz manji ukupni broj afereza. Nedostatci kemomobilizacije uključuju povećani toksicitet i morbiditet, tj. veću potrebu za hospitalizacijom radi same primjene režima. Također, „mobilizacijski prozor“, tj. trenutak u kojem će broj CD34+ stanica u PK doseći optimalnu vrijednost je manje predvidljiv u usporedbi sa „steady-state“ pristupom.

Tablica 3. Karakteristike kemomobilizacije

| PREDNOSTI | NEDOSTATCI |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Viši prinos matičnih stanica u usporedbi sa „steady state“ • Manji broj afereza • Moguće protutumorsko djelovanje | <ul style="list-style-type: none"> • Veći broj nuspojava u usporedbi sa „steady state“ • Nekonzistentni rezultati • Potreba za hospitalizacijom • Može utjecati na buduće mobilizacije • Dulji period od početka mobilizacije do prve afereze • Nepredvidljivo vrijeme postizanja vrše vrijednosti CD34+ u PK |

Kemomobilizacija se danas provodi terapijskim protokolom specifičnim za bolest (kao dio indukcijske terapije ili salvage terapije) ili kao zaseban protokol mobilizacijske kemoterapije. U tu svrhu najčešće se upotrebljavaju visoke doze ciklofosfamida kao dio mobilizacijskog protokola u pacijenata s MM.



Slika 2. Kemomobilizacija

Suprotno tome, kod pacijenata s (relapsiranim) limfomom zasebna G/C se izbjegava zbog dodatnog opterećenja ciklusima kemoterapije. Stoga se kod tih pacijenata jedan od ciklusa primarne kemoterapije iskorištava kao mobilizacijski ciklus (Ozkan et al. 2014, Zhou et al 2015).



Slika 3. Primarna terapija kao kemomobilizacija

Doze odobrene za mobilizaciju PKMS nakon mijelosupresivne kemoterapije jesu 5-10 μ g/kg/dan supkutano (filgrastim), odnosno 150 μ g / m² / dan (lenograstim). Primjena faktora rasta započinje 1 do 5 dana nakon dovršetka kemoterapije i nastavlja se sve do posljednje leukaferenze.

Kod pacijenata mobiliziranih kemoterapijom i faktorima rasta, broj CD34+ stanica u perifernoj krvi se počinje nadzirati 8 do 10 dana nakon administracije kemoterapije jer se očekuje da će doseći svoj vrhunac u to vrijeme. Taj period ovisi kako o specifičnom režimu kemoterapije koji je korišten kao mobilizacijski, tako i o pacijentovim predispozicijama (Duong et al. 2014).

3.3.3. Pleriksafor

U posljednje vrijeme sve češće se uporebljava nova mala molekula, kodnog imena AMD3100 (generično pleriksafor, zaštićeno Mozobil). Ona je antagonist kemokinskog receptora 4 (CXCR4), čime sprječava interakciju toga receptora s čimbenikom stanične strome (SDF-1), što je od ključnog značenja za mobilizaciju. Ometanjem te interakcije prekidaju se međustanične veze kojima se matična stanice sidre u koštanoj srži i tako se omogućuje njihov ulazak u krvotok.

Pleriksaforov mogući doprinos mobilizaciji je evaluiran kliničkim istraživanjima koja su pokazala da on poboljšava mobilizaciju kada je pridodana „steady-state“ protokolu. Za uporabu u Europi pleriksafor je odobren u kombinaciji s G-CSF-om u pacijenata s limfomom i multiplim mijelomom koji slabo mobiliziraju krvotovorne matične stanice. (Malard et al. 2012, Hübel et al. 2012, Micallef et al. 2010, Basak et al. 2011). Učinak ovakvog protokola (G/P) se pokazao daleko superiorniji starijim modalitetima mobilizacije (DiPersio et al. 2009, Costa et al. 2011, DiPersio et al. 2009). Preliminarna istraživanja također potvrđuju sigurnost uporabe pleriksafora kao dodatka kemomobilizaciji (Dugan et al. 2010). Istraživanja su pokazala da se pomoću pleriksafora značajno poboljšava količina prikupljenih CD34+ stanica, povećava broj pacijenata koji dosežu minimalne i optimalne ciljeve prikupljanja, potreban je manji broj afereza i manje dana mobilizacije i sakupljanja. Iako uporaba pleriksafora povećava cijenu pojedinačnog postupka, zbog većeg uspjeha mobilizacije ona smanjuje ukupne troškove liječenja u pojedinog pacijenta. Uzimajući ove okolnosti u obzir, možemo vidjeti da je predviđanje slabih mobilizatora od samog početka postupka mobilizacije pitanje od velike kliničke važnosti. (Antar et al. 2015, Micallef et al. 2013, Li et al. 2011, Shaughnessy et al. 2011).

Tablica 4. Karakteristike mobilizacije faktorima rasta i pleriksaforom

| PREDNOSTI | NEDOSTATCI |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Niska toksičnost • Moguća ambulantna primjena • Niska stopa neuspjeha • Visoka stopa prikupljanja optimalnog broja CD34+ stanica • Efikasna mobilizacija kod loših mobilizatora • Predvidljiva mobilizacija omogućuje jednostavno planiranje afereze • Kraće vrijeme od primjene do afereze u usporedbi s kemomobilizacijom | <ul style="list-style-type: none"> • Gastrointestinalne nuspojave • Cijena |

Kada se koristi kao dopuna „steady-state“ mobilizaciji, odobrena doza iznosi 240µg/kg/dan supkutano. Primjenjuje se 6 do 11 sati prije početka afereze, odnosno nakon 4 dana tretmana faktorima rasta. (Mohty et al. 2014)

3.4. LEUKAFEREZA

Danas se stanice za ATKMS se prikupljaju postupkom leukaferoze. Leukaferoze se inicira s obzirom na protokol mobilizacije prema različitim kriterijima. Kod mobilizacije faktorima rasta, prva afereza se čini na 4. ili 5. dan od početka primjene faktora rasta. Kod mobilizacije faktorima rasta i pleriksaforom to se čini jutro nakon primjene pleriksafora, najčešće na 5. dan mobilizacije. U slučaju kemomobilizacije prati se broj CD34+ stanica u perifernoj krvi te se leukaferoze inicira kada on poraste a vrijednost $>20 \times 10^6 / L$, što najčešće pada 9 do 12 dana od primjene kemoterapije. Bolesniku se postavlja centralni venski kateter, najčešće u jugularnu ili femoralnu venu, koji je velikog promjera i dvolumenski kako bi dopustio velik protok krvi u oba smjera. Taj kateter se spaja na aparat za leukaferozu. Jedan lumen katetera se koristi za dopremu krvi iz bolesnikove cirkulacije u aparat. Krv

potom ulazi u komoru za centrifugiranje gdje se pod visokom brzinom centrifugiranja provodi postupak stanične separacije. Matične stanice se pritom prikupljaju kontinuirano ili u ciklusima, a ostale komponente krvi se vraćaju u bolesnikov krvotok kroz drugi lumen katetera. (Duong et al., 2014.).

Prikupljanje dovoljnog broja KMS za transplantaciju ponekad je otežano činjenicom da bolesnici ne mogu mobilizirati dovoljan broj CD34+ stanica u krv. Primjena novih agenasa za mobilizaciju, unapređenje tehnološkog postupka prikupljanja, kao i sakupljanje transplantata u ranijoj fazi liječenja može smanjiti broj potrebnih postupaka leukaferoze. Drugi način kojim se može povećati prinos KMS je povećanje volumena krvi koji se obrađuje leukaferozom. Glavni argument za povećanje volumena krvi tijekom jedne leukaferoze leži činjenici da je učinak mobilizacije prolazan, tj. CD34+ stanice se u krvi samo kratkovremeno nalaze u maksimalnoj koncentraciji. Stoga se to vrijeme mora što efikasnije iskoristiti kako bi se prikupio što veći broj stanica. Pri standardnoj ili leukaferoz normalnog volumena procesuiru se ukupno 2.5 do 3 ukupna volumena pacijentove krvi, što iznosi 8 do 12 litara, a postupak je ograničen na vremensko razdoblje od 3 do 4 sata. Leukaferozom velikog volumena krv se procesuiru 3 i više, pa do 6 ukupnih volumena krvi, što može iznositi i do 25 litara krvi. Vrijeme trajanja postupka ostaje podjednako jer se koristi dvostruko veća brzina obrade krvi u separatoru. Vrijeme trajanja postupka ostaje podjednako jer se koristi dvostruko veća brzina obrade krvi u separatoru, čime se se maksimalno iskorištava razdoblje vršnog broja CD34+ stanica u perifernoj krvi. (Bojanić, 2009.)

Zbog potrošnje veće količine antikoagulantne otopine i primjene heparina, tijekom leukaferoze velikog volumena učestalo dolazi do manifestacije nuspojava. To su najčešće smanjenje razine kalcija i kalija, produženje APTV i trombocitopenija.

Naposljetku, leukaferoz velikog volumena se ipak smatra sigurnom procedurom i korisnom strategijom za maksimiziranje količine prikupljenih CD34+ stanica, osobito kod bolesnika s niskom koncentracijom CD34+ stanica u perifernoj krvi. Veći konačni prinos CD34+ stanica se objašnjava regrutacijom stanica iz koštane srži tijekom afereze, iako točan mehanizam za ovaj fenomen još nije razjašnjen. (Bojanić et al., 2011)

3.5. USPJEH I ISHOD MOBILIZACIJE

Uspjehom mobilizacije smatra se postizanje dovoljne koncentracije CD34+ stanica u perifernoj krvi. Zavisno o praksi transplantacijskog tima, danas se smatra kako se mobilizaciji može pristupiti kod vrijednosti broja CD34+ u perifernoj krvi 10 do $20 \times 10^6 / L$. Stoga se bolesnici koji mobiliziraju $>20 \times 10^6 / L$ smatraju “dobrim mobilizatorima”.

Prikupljanje dovoljnog broja CD34+ stanica, kao surogata specifičnom biljegu za matične stanice, je od najveće važnosti jer doza infundiranih CD34+ stanica utječe na uspjeh i brzinu oporavka hematopoeze. Dovoljna količina prikupljenih CD34+ stanica ustvari čini preduvjet za sigurnu transplantaciju i stabilan oporavak hematopoeze. Postoje dokazi koji podupiru minimalnu dozu od 2×10^6 CD34+ stanica/kg tjelesne težine koja osigurava uspješan oporavak hematopoeze i stoga se ta brojka danas uzima kao minimalna potrebna doza koja omogućava postupak transplantacije. Međutim, novije studije predlažu optimalnu dozu $\geq 5 \times 10^6$ CD34+ stanica/kg tjelesne težine, koja rezultira bržim i predvidljivijim oporavkom hematopoeze, osobito broja trombocita. Moderne studije predlažu klasifikaciju prema količini prikupljenih CD34+ stanica na sljedeći način: $\geq 5 \times 10^6$ CD34+ stanica/kg kao optimalnu količinu, ≥ 2 do $< 5 \times 10^6$ CD34+ stanica/kg kao suboptimalnu količinu i $< 2 \times 10^6$ CD34+ stanica/kg kao neuspjeh prikupljanja (Duong et al. 2014).

3.6. NEUSPJEH MOBILIZACIJE

Bolesnici koji mobiliziraju 11 do $19 \times 10^6 / L$ klasificiraju kao “granično loši” mobilizatori, ali se pri ovim vrijednostima CD34+ stanica još uvijek može pristupiti prikupljanju stanica. Mobilizacija $6 - 10 \times 10^6 / L$ svrstat će bolesnika u skupinu “relativno loših” mobilizatora, dok je $<5 \times 10^6 / L$ granično da bismo bolesnika proglasili “apsolutno lošim” mobilizatorom. Ove dvije skupine neće pristupiti aferezi matičnih stanica. (Mohty et al. 2014).

Iako većina pacijenata uspijeva prikupiti minimum od 2×10^6 CD34+ stanica/kg za barem jedan postupak ATKMS, procjene govore da su mobilizacija trenutačnim režimima ne uspijeva u 5% do 30% slučajeva, u prosjeku otprilike u 19% slučajeva. U studiji Gertz et al., učinjenoj na 1775 pacijenata, primijećeno je da je 47% pacijenata prikupilo suboptimalnu količinu stanica. Od toga je 37% nastavilo liječenje u smislu transplantacije, dok je ostalih 63% podvrgnuto remobilizaciji. Postoji li potreba za dvije transplantacije zbog specifične strategije liječenje, čak i veći udio bolesnika ne uspijeva postići individualni cilj prikupljanja. Te bolesnike nazivamo „slabim mobilizatorima“ (engl. poor mobilizers). Neuspješan

inicijalni pokušaj mobilizacije rezultira dodatnim pokušajima mobilizacije, koji se negativno odražavaju na kliničke ishode pacijenta i signifikantno povećavaju potrebe za zdravstvenom skrbi. (Pusic et al. 2008, Gertz et al. 2010, Duong et al. 2014).

Čimbenici koji su identificirani kao glavni negativni prediktori mogu se podijeliti na premobilizacijske i intramobilizacijske.

Tablica 5. Faktori rizika za slabu mobilizaciju

| PREMOBILIZACIJSKI | INTRAMOBILIZACIJSKI |
|---|--|
| <p>Povezani s pacijentom</p> <ul style="list-style-type: none"> • Starija dob (>60 godina) • Dijagnoza NHL • Dijabetes <p>Povezani s liječenjem</p> <ul style="list-style-type: none"> • Brojni ciklusi prethodne kemoterapije • Korištenje melfalana, fludarabina, terapijskih protokola s lijekovima koji sadrže platinu, alkilirajućih agensa ili lenalidomida • Terapija ozračivanja koštane srži <p>Povezani s koštanom srži</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zahvaćenost koštane srži • Trombocitopenija | <ul style="list-style-type: none"> • Nizak broj CD34+ stanica u perifernoj krvi neposredno prije afereze • Slab rezultat prikupljanja 1. dan afereze |

S obzirom na mogućnost neuspjeha mobilizacije, mnogi centri koji provode ATKMS razvijaju algoritme kako bi identificirali bolesnike s visokim rizikom za neuspjeh mobilizacije. Kod tih rizičnih bolesnika je potrebno inicirati „terapiju spašavanja“ tijekom prve mobilizacije kako bi se povećala vjerojatnost uspjeha. Ta „terapija spašavanja“ se danas provodi pleriksaforom. (Duong et al. 2014).

Kod bolesnika kod kojih mobilizacija ne uspije preporuča se period odmora od 2 do 4 tjedna prije pokušaja remobilizacije. Faktori rasta kao remobilizacijski režim načelno nisu uspješni. Čak i kombinacijom više faktora rasta do neuspjeha dolazi u više od 80%

remobilizacija. Kemomobilizacija također ostvaruje nezadovoljavajuće rezultate uz više nuspojava terapije. Pleriksafor s G-CSF-om (bez kemoterapije) pokazuje najbolje rezultate i drži se za preferirani pristup remobilizaciji (Duong et al. 2014).

4. HIPOTEZA

Hipoteza ovoga rada je da čimbenici povezani s bolesnikom, bolešću i njenim liječenjem te s načinom mobilizacije utječu na uspjeh mobilizacije. S obzirom na obilježja i specifičnosti bolesnika te načina liječenja i mobilizacije KMS u pojedinim centrima moguće su razlike u utjecaju pojedinih čimbenika na uspjeh mobilizacije u odnosu na do sada publicirane rezultate.

5. CILJEVI RADA

Cilj rada je utvrditi ovisnost uspjeha mobilizacije o osobinama bolesnika, načinu mobilizacije i prethodnim terapijskim postupcima primjenjivima pri liječenju pacijenta, na temelju podataka dobivenih iz baze pacijenata liječenih u ustanovi KB Dubrava.

6. ISPITANICI I METODE

Bolesnici uključeni u ovo istraživanje liječeni su na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Dubrava u Zagrebu, u periodu od 2007. do 2016. godine. Analiza učinjena je na seriji od 133 bolesnika s dijagnozom multiplog mijeloma ili malignog limfoma koji su povrgnuti 144 postupaka mobilizacije. Bolesnici liječeni zbog drugih bolesti (akutne leukemije) zbog malog broja nisu uključeni u ovo istraživanje.

Podatci su prikupljeni iz povijesti bolesti pacijenata korištenjem Bolničkog informacijskog sustava KB Dubrava te iz arhive bolesnika liječenih ATKMS u KB Dubrava.

Istraživane su sljedeće varijable:

- Dob bolesnika
- Spol bolesnika
- Dijagnoza
- Vrijeme proteklo od posljednjeg ciklusa kemoterapije
- Ukupan broj ciklusa kemoterapije
- Broj terapijskih linija
- Bolesnik liječen Rituksimabom (za dijagnozu non-Hodgkinov limfom)
- Bolesnik liječen terapijom uz povišavanje doza (engl. dose escalation, za dijagnozu non-Hodgkinov limfom)
- Bolesnik liječen Fludarabinom (za dijagnozu non-Hodgkinov limfom)
- Bolesnik liječen Etopozidom (za dijagnozu non-Hodgkinov limfom)
- Bolesnik liječen BEACOPP protokolom (za dijagnozu Hodgkinova bolest)
- Bolesnik liječen Bortezomibom (za dijagnozu multipli mijelom)
- Bolesnik liječen Melfalanom (za dijagnozu multipli mijelom)
- Bolesnik liječen Talidomidom (za dijagnozu multipli mijelom)
- Vrijeme proteklo od početka mobilizacije do prve afereze
- Broj leukocita u perifernoj krvi

- Broj trombocita u perifernoj krvi
- Broj CD34+ stanica
- Omjer apsolutnog broja CD34+ stanica u perifernoj krvi i pripravku matičnih stanica

Prikupljeni podaci su analizirani računalnim programom „Statistical Package for the Social Sciences“ (SPSS). Utjecaj različitih varijabli na prikupljanje KMS analiziran je uporabom testova linearne regresije, t testa nezavisnih uzoraka i k testa nezavisnih uzoraka.

7. REZULTATI

Arhiva bolesnika liječenih ATKMS Zavoda za hematologiju KB Dubrava za vrijeme prikupljanja podataka je sadržavala 137 upisanih pacijenata koji su podvrgnuti ukupno 148 postupaka mobilizacije odnosno remobilizacije PKMS. Od toga su 133 pacijenta na kojima su učinjene 144 mobilizacije zadovoljili uključene kriterije (dijagnoza limfoma ili multiplog mijeloma). U svrhu analize prikupljeni su dodatni podaci služeći se Bolničkim informatičkim sustavom KB Dubrava.

Tablica 6. Pregled obilježja bolesnika

| Dijagnoza | NHL | HL | MM | Ukupno |
|---|------------|-------------|------------|------------|
| Broj slučajeva (n, %) | 58 (40.3) | 10 (6.9) | 76 (52.8) | 144 |
| Medijan dobi | 52.5 | 30.5 | 58 | 55 |
| Spol (n, %) | | | | |
| Muški | 33 (56.9) | 3 (30.0) | 39 (51.3) | 76 (52.1) |
| Ženski | 25 (43.1) | 7 (70.0) | 37 (48.7) | 72 (47.9) |
| Broj prethodećih terapijskih linija (n, %) | | | | |
| 1 | 37 (63.8) | --- | 39 (51.3) | 76 (52.8) |
| 2 | 15 (25.9) | 5 (50.0) | 30 (39.5) | 50 (34.7) |
| ≥3 | 4 (6.9) | 3 (30.0) | 6 (7.9) | 13 (9.0) |
| Ukupan broj ciklusa kemoterapije (medijan, raspon) | 7 (5 - 20) | 10 (4 - 12) | 7 (2 - 17) | 7 (2 - 20) |
| Vrijeme proteklo od posljednjeg ciklusa (mjeseci, n %) | | | | |
| <1 | 7 (12.1) | 1 (10.0) | 16 (21.1) | 23 (16.0) |
| 1 do 2 | 30 (51.7) | 7 (70.0) | 36 (47.4) | 69 (47.9) |
| 2 do 3 | 2 (3.4) | 1 (10.0) | 6 (7.9) | 8 (5.6) |
| >3 | 7 (12.1) | 1 (10.0) | 3 (3.9) | 16 (11.1) |
| Mobilizacija (n, %) | | | | |
| Prva mobilizacija | 57 (98.3) | 9 (90.0) | 65 (85.5) | 131 (91.0) |
| Remobilizacija | 1 (1.7) | 1 (10.0) | 11 (14.5) | 13 (9.0) |

Tablica 7. Prethodna terapija i mobilizacijski protokoli prema dijagnozi

| Dijagnoza | NHL | HL | MM | Ukupno |
|-------------------------------------|--------------|----------|--------------|---------------|
| Prethodna terapija (n, %) | | | | |
| Rituksimab | 44 (75.9) | --- | --- | --- |
| Prilagođavanje doze | 43 (74.1) | --- | --- | --- |
| Fludarabin | 2 (3.4) | --- | --- | --- |
| Etopozid | 49 (84.5) | --- | --- | --- |
| BEACOPP (etopozid) | --- | 8 (80.0) | --- | --- |
| Bortezomib | --- | --- | 45 (59.2) | --- |
| Talidomid | --- | --- | 2 (2.6) | --- |
| Melfalan | --- | --- | 2 (2.6) | --- |
| Protokol mobilizacije (n, %) | | | | |
| G/C | 48 (82.8) | 8 (80.0) | 55 (72.4) | 111 (77.1) |
| pegG/C | 0 (0) | 1 (10.0) | 5 (6.6) | 6 (4.2) |
| G/C+P | 4 (5.2) | 0 (0) | 1 (1.3) | 4 (2.8) |
| G/P | 6 (10.3) | 1 (10.0) | 7 (9.2) | 14 (9.7) |
| G | 1 (1.7) | 0 (0) | 6 (7.9) | 7 (4.9) |
| pegG | 0 (0) | 0 (0) | 2 (2.6) | 2 (1.4) |

7.1 OBILJEŽJA BOLESNIKA

Najveći kontingent bolesnika, njih 76 (52.8%), ima dijagnozu multiplog mijeloma. Oba spola su podjednako zastupljena, s 39 (51.3%) muških bolesnika i 37 (48.7) ženskih bolesnika. Medijan životne dobi za ovu skupinu je 58 godina. Više od polovice bolesnika iz ove skupine (N = 39, 51.3%) prethodno je liječeno samo jednom linijom kemoterapije, 30 (39.5%) primilo je dvije linije kemoterapije, dok je kod samo 6 (7.9%) bolesnika primijenjen i 3. protokol kemoterapije. Medijan broja ciklusa kemoterapije prije mobilizacije je 7, u rasponu od 2 do 17 ciklusa. Većina bolesnika u ovoj skupini (63, 82.9%) je liječena VAD protokolom kemoterapije (vinkristin, doksorubicin, deksametazon), dok je 45 (59.2%) bolesnika primali terapiju zasnovanu na bortezomibu (VD – bortezomib / dexametazon, VCD – bortezomib / ciklofosamid / dexametazon), kao prvu ili drugu liniju terapije. 2 bolesnika (2.6%) su primili terapiju zasnovanu na talidomidu, a još 2 (2.6%) melfalan. Bolesnici s MM

mobilizirani su najčešće, u skladu s praksom kuće, G/C protokolom. 55 pacijenata (72.4%) mobilizirano je klasičnim G/C, s time da je kao analog G-CSF-a korišten filgrastim (Neupogen, Roche), dok je preparatornu kemoterapiju sačinjavala primjena visokih doza ciklofosfamida (Endoxan, Baxter). U 5 bolesnika (6.6%) filgrastim je zamijenjen pegfilgrastimom (Neulasta, Roche), dok su 1 (1.3%) bolesnik tijekom kemomobilizacije primio pleriksafor, kao pokušaj sprječavanja neuspjeha mobilizacije. 7 (9.2%) bolesnika je mobilizirano faktorima rasta i pleriksaforom (Mozobil, Genzyme), 6 (7.9%) samo faktorima rasta, tj. još 2 (2.6%) samo pegiliranim faktorima rasta. 16 (21.1%) bolesnika s MM je mobilizirano unutar 30 dana od posljednjeg ciklusa kemoterapije, 36 (47.4%) u periodu od 31 do 60 dana od posljednjeg ciklusa, 6 (7.9%) unutar 61 do 90, a još 3 (3.9%) više od 90 dana od posljednjeg ciklusa. 65 (85.5%) mobilizacija kod bolesnika s ovom dijagnozom su prve mobilizacije, dok preostalih 11 (14.5%) čini ponovljene mobilizacije.

Drugu po veličini skupinu čini 58 (39.2%) bolesnika s dijagnozom non-Hodgkinovog limfoma. Medijan dobi za ovu skupinu bolesnika iznosi 52.5 godina. U skupini se nalazi 33 (56.9%) muških i 25 (43.1%) bolesnika. 37 (63.8%) bolesnika liječeno je samo jednom linijom kemoterapije, 15 (25.9%) bolesnika je liječeno s dvije linije kemoterapije dok su samo 4 (6.9%) bolesnika liječena s tri ili više kemoterapijskih linija. Medijan provedenih ciklusa kemoterapije je 7, u rasponu od minimalnih 5 do maksimalnih 20 ciklusa. Većina bolesnika s ovom dijagnozom liječena je R-CHOP (rituksimab, ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin, prednizon / prednizolon) ili R-DA-EPOCH (rituksimab, etopozid, prednizolon, vinkristin, ciklofosfamid, doksorubicin uz prilagođavanje doze ovisno o neutropeniji, trombocitopeniji i koliko dobro pacijent tolerira terapiju – engl. dose adjusted - DA) protokolom. Rituksimab su primila 44 (75.9%) bolesnika, prilagođavanje doze (DA) 43 (74.1%), odnosno etopozid 49 (84.5%) bolesnika. 2 (3.4%) bolesnika su primili fludarabin, purinski analog uz koji se veže izrazito loša prognoza mobilizacije. Mobilizacija je, kao i u skupini bolesnika s MM, u pravilu učinjena G/C protokolom. 48 (82.8%) pacijenata je mobilizirano klasičnim protokolom, dok je kod 4 (5.2%) pacijenta provedeno spašavanje mobilizacije uz pomoć pleriksafora (Mozobil, Genzyme). Kod bolesnika mobiliziranih zasebno kemoterapijom korišten je mini-BEAM protokol (karmustin – BCNU, etopozid, citarabin – Ara-C, melfalan). 7 (12.1%) bolesnika je mobilizirano unutar 30 dana od posljednjeg ciklusa. 30 (51.7%) bolesnika je mobilizirano 31 do 60 dana, 2 (3.4%) bolesnika unutar 61 do 90 dana, a 7 (12.1%) bolesnika više od 90 dana od posljednjeg ciklusa

kemoterapije. Za 57 (98.3%) bolesnika ovo je bila prva mobilizacija, dok je 1 (1.7%) bolesnik podvrgnut remobilizaciji.

Treću skupinu bolesnika čini njih 10 (6.8%) s dijagnozom Hodgkinovog limfoma. Skupina je po spolu podijeljena na 3 (30.0%) muška i 7 (70.0%) ženskih bolesnika. Medijan starosne dobi bolesnika 30.5 godina. 5 (50%) bolesnika je liječeno s dvije linije kemoterapije, a 3 (30%) s tri ili više kemoterapijskih linija. Prosječno je provedeno 10 kemoterapijskih ciklusa po bolesniku, u rasponu od 4 do 12 kemoterapijskih ciklusa. Bolesnici s ovom dijagnozom liječeni su ABVD (doksorubicin, bleomicin, vinblastin, dakarbazin) i BEACOPP (bleomicin, etopozid, doksorubicin, ciklofosfamid, vinkristin, prokrabazin, prednizon) protokolima kemoterapije. Svih 8 (100.0%) bolesnika je liječeno BEACOPP protokolom. 7 (70.0%) bolesnika je mobilizirano G/C protokolom, dok je 1 (12.5%) bolesnik mobiliziran G/C uz primjenu dugodjelujućeg pegfilgrastima. 1 (10.0%) pacijenta s MH je mobilizirano unutar 30 dana od posljednjeg ciklusa kemoterapije, 7 (70.0%) u periodu od 31 do 60 dana od posljednjeg ciklusa, 1 (10.0%) unutar 61 do 90, a još 1 (10.0%) više od 90 dana od posljednjeg ciklusa. 9 (90.0%) bolesnika je prvi put mobilizirano, dok je 1 (10.0%) podvrgnut remobilizaciji.

7.2. STATISTIČKA OBRADA

Dob. Utvrđena je statistički značajna slaba negativna korelacija između dobi bolesnika i količine mobiliziranih perifernih CD34+ stanica (linearna regresija, $R = 0.231$, $p = 0.005$). Medijan dobi iznosi 55 godina ($N = 148$) uz medijan vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ stanica u perifernoj krvi $44,90 \times 10^6 / L$. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u sposobnosti mobilizacije CD34+ stanica između skupine bolesnika mlađe 60 godina starosti ($N = 101$, medijan CD34+ = $45,10 \times 10^6 / L$) i skupine bolesnika stare 60 i više godina ($N = 47$, medijan CD34+ = $40,50 \times 10^6 / L$) (t test nezavisnih uzoraka, $p = 0.262$).

Dijagnoza. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između različitih dijagnoza i količine mobiliziranih perifernih CD34+ stanica (k test nezavisnih uzoraka, Hi kvadrat = 1.664, $p = 0.645$). Medijani vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za pojedine dijagnoze jesu: NHL – $39,95 \times 10^6 / L$ ($N = 58$), HL – $47,65 \times 10^6 / L$ ($N = 10$), MM – $46,10 \times 10^6 / L$ ($N = 76$).

Tablica 8. Koncentracija CD34+ u PK prema dijagnozi

| Dijagnoza | Medijan CD34+ x 10 ⁶ / L | Broj slučajeva |
|-----------|-------------------------------------|----------------|
| NHL | 39,95 | 58 |
| HL | 47,65 | 10 |
| MM | 46,10 | 76 |

Spol. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između spolova u sposobnosti mobilizacije CD34+ stanica (t test nezavisnih uzoraka, $p = 0.796$). Medijan vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za muški spol iznosi $41,40 \times 10^6 / L$ ($N = 76$), a za ženski $46,15 \times 10^6 / L$ ($N = 72$).

Prva mobilizacija ili remobilizacija. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u mobilizaciji CD34+ stanica između skupine koja je mobilizirana prvi put i skupine koja je podvrgnuta remobilizaciji (t test nezavisnih uzoraka, $p = 0.664$). Medijan vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za mobilizirane pacijente iznosi $44,10 \times 10^6 / L$ ($N = 135$), a za remobilizirane pacijente $45,60 \times 10^6 / L$ ($N = 13$).

Vrijeme od posljednjeg ciklusa kemoterapije. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između vremena od posljednjeg ciklusa kemoterapije i apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ stanica (k test nezavisnih uzoraka, $p=0.569$).

Tablica 9. Koncentracija CD34+ u PK prema periodu od posljednje kemoterapije

| Vrijeme od posljednje kemoterapije | Medijan CD34+ u PK x 10 ⁶ / L | Broj slučajeva |
|------------------------------------|--|----------------|
| <1 mjeseca | 62.90 | 23 |
| 1 – 2 mjeseca | 38.40 | 69 |
| 2 – 3 mjeseca | 33.90 | 8 |
| >3 mjeseca | 31.05 | 16 |

Ukupan broj ciklusa kemoterapije. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između ukupnog broja ciklusa kemoterapije i broja mobiliziranih CD34+ stanica (linearna regresija, $p = 0.958$). Medijan iznosi 7 ciklusa kemoterapije ($N = 136$).

Broj provedenih terapijskih linija. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između broja terapijskih linija i broja mobiliziranih CD34+ stanica (t test nezavisnih uzoraka, $p = 0.139$). Medijani vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+

stanica prema broju terapijskih linija jesu: 1 ili 2 – $46.20 \times 10^6 / L$ (N = 78), 3 i više – $32,40 \times 10^6 / L$ (N = 13). Podatci nedostaju u 6 slučajeva.

Tablica 10. Koncentracija CD34+ stanica u PK prema broju terapijskih linija

| Broj terapijskih linija | Medijan CD34+ x $10^6 / L$ | Broj slučajeva |
|-------------------------|----------------------------|----------------|
| 1 ili 2 | 46.20 | 125 |
| 3 i više | 32,40 | 13 |

Vrijeme od početka mobilizacije do prve afereze. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između vremena proteklog od početka mobilizacije do prve afereze i broja mobiliziranih CD34+ stanica (linearna regresija, $p = 0.913$, medijan = 15,00 dana).

Mobilizacijski protokol. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između pojedinih protokola mobilizacije i broja mobiliziranih CD34+ stanica (k test nezavisnih uzoraka, Hi-kvadrat = 22.231, $p < 0,001$). Medijani vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za pojedine mobilizacijske protokole jesu: G/C – $53.00 \times 10^6 / L$ (N = 111), pegG/C – $24.55 \times 10^6 / L$ (N = 6), G/C+P – $9.05 \times 10^6 / L$ (N = 4), G/P – $41.35 \times 10^6 / L$ (N = 14), G – $32.20 \times 10^6 / L$ (N = 7), pegG – $39.15 \times 10^6 / L$ (N = 2).

Tablica 11. Koncentracija CD34+ u PK prema mobilizacijskom protokolu

| Mobilizacijski protokol | Medijan CD34+ x $10^6 / L$ | Broj slučajeva |
|-------------------------|----------------------------|----------------|
| G/C | 53.00 | 111 |
| pegG/C | 24.55 | 6 |
| G/C+P | 9.05 | 4 |
| G/P | 41.35 | 14 |
| G | 32.20 | 7 |
| pegG | 39.15 | 2 |

Rituksimab. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u sposobnosti mobilizacije CD34+ stanica između skupine koja je primala i koja nije primala rituksimab (t test nezavisnih uzoraka, $p = 0.749$). Medijan vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za skupinu koja je primala rituksimab je $37,70 \times 10^6 / L$ (N = 44), odnosno $49,80 \times 10^6 / L$ (N = 12) za skupinu koja nije primala rituksimab.

Podešavanje doze. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost u sposobnosti mobilizacije CD34+ stanica između skupine kod koje je provođeno i skupine kod koje nije provođeno podešavanja terapijske doze kemoterapeutika (t test nezavisnih uzoraka, $p = 0.966$). Medijan vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za skupinu koja je primala terapiju s podešavanjem doze je $38,40 \times 10^6 / L$ ($N = 43$), odnosno $46,20 \times 10^6 / L$ ($N = 13$) za skupinu koja nije primala terapiju s povisivanjem doze.

Fludarabin. Budući da su samo 2 bolesnika liječena fludarabinom, nije bilo moguće provesti statističke testove s obzirom na ovu varijablu. To su jedna bolesnica i jedan bolesnik s dijagnozom NHL.

Etopozid. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost u sposobnosti mobilizacije CD34+ stanica između skupine koja je primala etopozid i skupine koja nije primala etopozid (t test nezavisnih uzoraka, $p = 0,248$). Medijan vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za skupinu koja je primala etopozid je $37,00 \times 10^6 / L$ ($N = 49$), odnosno $84,60 \times 10^6 / L$ ($N = 7$) za skupinu koja nije primala etopozid.

Beacopp. Medijan vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za skupinu pacijenata s dijagnozom MH, koja je primala BEACOPP terapijski protokol iznosi $47,65 \times 10^6 / L$ ($N = 8$).

Bortezomib. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost u sposobnosti mobilizacije CD34+ stanica između skupine koja je primala bortezomib i skupine koja nije primala bortezomib (t test nezavisnih uzoraka, $p = 0,189$). Medijan vrijednosti apsolutnog broja mobiliziranih CD34+ za skupinu koja je primala bortezomib je $46,10 \times 10^6 / L$ ($N = 45$), odnosno $45,35 \times 10^6 / L$ ($N = 32$) za skupinu koja nije primala bortezomib.

Talidomid. Samo 2 pacijenta u istraživanoj seriji liječena su talidomidom, što je nedovoljan uzorak za statističku obradu podataka za ovu varijablu.

Melfalan. S obzirom da su samo 2 pacijenta u istraživanoj seriji liječena melfalanom, nije bilo moguće provesti statističku usporedbu skupina.

Broj leukocita. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između broja leukocita u perifernoj krvi i sposobnosti mobilizacije CD34+ stanica (linearna regresija, $R = 0,109$, $p = 0.186$).

Broj trombocita. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između broja trombocita u perifernoj krvi i sposobnosti mobilizacije CD34+ stanica (linearna regresija, $R = 0,137$, $p = 0,096$).

Regrutacija matičnih stanica. Izračunat je prosječan omjer apsolutnog broja CD34 u perifernoj krvi i apsolutnog broja CD34 u transplantacijskom pripravku. Medijan ove vrijednosti iznosi 1.93 ($N = 148$) za prvi dan afereze. Drugi dan afereze medijan ove vrijednosti iznosi 1.33 ($N = 110$), treći dan 1.72 ($N = 11$), a četvrti dan 1.08 ($N = 1$).

Tablica 12. Regrutacija matičnih stanica prema danu afereze

| Dan afereze | Omjer apsolutnog broja CD34+ pripravak/periferna krv | Broj slučajeva |
|-------------|--|----------------|
| 1. | 1.93 | 148 |
| 2. | 1.33 | 110 |
| 3. | 1.72 | 11 |
| 4. | 1.08 | 1 |

Utvrđeno je da između različitih protokola mobilizacije postoji statistički značajna razlika u sposobnosti regrutacije novih matičnih stanica iz koštane srži (k test nezavisnih uzoraka, $p = 0.002$). Medijani vrijednosti omjera apsolutnog broja CD34+ u perifernoj krvi i apsolutnog broja CD34 u transplantacijskom pripravku s obzirom na pojedini režim mobilizacije iznose: G/C – 2.01 ($N = 114$), pegG/C – 2.28 ($N = 6$), G/C+P – 2.43 ($N = 4$), G/P – 0.89 ($N = 14$), G – 1.33 ($N = 8$), pegG – 1.91 ($N = 2$).

Tablica 13. Regrutacija matičnih stanica prema mobilizacijskom protokolu

| Mobilizacijski protkol | Omjer apsolutnog broja CD34+ pripravak/periferna krv | Broj slučajeva |
|------------------------|--|----------------|
| G/C | 2.01 | 114 |
| pegG/C | 2.28 | 6 |
| G/C+P | 2.43 | 4 |
| G/P | 0.89 | 14 |
| G | 1.33 | 8 |
| pegG | 1.91 | 2 |

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u sposobnosti regrutacije CD34+ stanica prvi dan afereze između skupine bolesnika mlađe 60 godina starosti (N = 101) i skupine bolesnika stare 60 i više godina ($p = 0.579$).

8. RASPRAVA

Mobilizacija i prikupljanje perifernih krvotvornih matičnih stanica već se više od dva desetljeća uspješno koriste u prikupljanju matičnih stanica potrebnih za ATKMS. Ovaj je postupak zbog mnogobrojnih prednosti gotovo u potpunosti istisnuo koštanu srž kao izvor matičnih stanica za autolognu transplantaciju. Kao što je već dobro utvrđeno u velikim studijama, postoje mnogobrojni čimbenici koji utječu na sposobnost bolesnikovog organizma da iz niša koštane srži i uz potporu mobilizacijskih režima istisne adekvatnu količinu matičnih stanica. Mnogi od njih, kao što su dob, dijagnoza, prethodna mijelotoksična kemoterapija već su odavno dobro identificirani i njihov utjecaj na mobilizaciju i aferezu PKMS je dobro dokumentiran mnogobrojnim institucionalnim i multicentričnim istraživanjima. Od 2007. godine se bolesnici koji uspješno prođu proces mobilizacije matičnih stanica na Odjelu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Dubrava upisuju u bazu podataka. Slučajevi iz te serije su korišteni u ovom istraživanju. U ovom retrospektivnom istraživanju pokušali smo analizirati čimbenike koji utječu na mobilizaciju krvotvornih matičnih stanica za koje smo imali dostupne podatke. Time smo pokušali stvoriti osnovu za usporedbu prakse mobilizacije u ovoj ustanovi s drugim publiciranim rezultatima.

Dob je već dobro poznati negativni prediktor uspjeha mobilizacije PKMS, što je potvrđeno mnogim studijama. Istraživanje Hosing et al. iz 2009. bolesnika s rekurentnim ili relapsom limfom je pokazalo kako značajan broj bolesnika starijih od 60 godine ne uspijeva mobilizirati adekvatan broj stanica. Kod bolesnika >60 godina starosti neuspjeh mobilizacije se dogodio u 36,6% (N = 46), dok je u skupini bolesnika <60 godina neuspjeh dogodio u 10,3% slučajeva (N = 150). Naši rezultati za dob bolesnika sugeriraju statistički slabu negativnu korelaciju između dobi bolesnika i količine mobiliziranih perifernih krvotvornih matičnih stanica. To potvrđuje i usporedba medijana vrijednosti mobiliziranih CD34+ u perifernoj krvi na 1. dan afereze između skupina bolesnika <60, odnosno ≥ 60 godina (45.10 prema $40.50 \times 10^6 / L$).

Dijagnoza kao zaseban prediktor slabije sposobnosti mobilizacije također u našem istraživanju nije dala statistički značajne rezultate. Međutim iz usporedbe medijana vrijednosti mobiliziranih CD34+ stanica (broj CD34+ u perifernoj krvi) možemo vidjeti kako su najviše stanica mobilizirali bolesnici iz kontingenta Hodgkinove bolesti, potom slijede

bolesnici s dijagnozom multiplog mijeloma, dok su bolesnici s non-Hodgkinovim limfomom najslabiji mobilizatori (47.65 prema 46.10 prema $39.95 \times 10^6 / L$). Pritom postoje velike razlike u medijanima starosti za pojedine skupine (30.50 prema 58.00 prema 52.50 godina). Ovi parcijalni rezultati sukladni su s istraživanjem Gertz et al. 2010 koje je istraživalo bolesnike sa suboptimalnim rezultatima mobilizacije. Pokazalo se da u skupini neuspjelih mobilizacija (bolesnici kod kojih nije isprobana afereza) prednjače bolesnici s non-Hodgkinovim limfomom (29% neuspjeha), potom slijedi multipli mijelom (24% neuspjeha), dok najmanji rizik od neuspjeha mobilizacije ima skupina s dijagnozom Hodgkinove bolesti (19%). U istoj studiji su bolesnici s NHL imali najveći udio slučajeva koji su podvrgnuti 4 i više terapijskih protokola (22%), naspram MH i MM (4% i 7%). Također, ako se ne postigne optimalni uspjeh u prvoj mobilizaciji, pokušaji remobilizacije rezultiraju potpunim neuspjehom u 7% slučajeva za Hodgkinovu bolest, 36% slučajeva za MM, i 15% slučajeva za NHL. Hosing et al. 2009 u istraživanju bolesnika s relapsom ili rekurentnim limfomom kako je dijagnoza non-Hodgkinovog prema Hodgkinovim limfom značajan prediktor neuspjeha mobilizacije bez obzira na dob bolesnika (18% prema 5%). Iz ovih podataka možemo zaključiti kako prema dijagnozi, najsigurniji mobilizatori dolaze iz skupine s dijagnozom Hodgkinove bolesti, dok su najmanje sigurni mobilizatori iz skupine non-Hodgkinovog limfoma, a kod bolesnika s MM postoji visoka stopa neuspjeha remobilizacije.

Rituksimab se pokazao kao veliki proboj u liječenju non-Hodgkinovog limfoma i njegov utjecaj na mobilizaciju se pokazao minornim što se slaže s našim rezultatima. Iako se u našem istraživanju nije pokazalo da statistički značajno utječe na broj mobiliziranih CD34+ stanica, ipak postoji zamjetljiva razlika u toj vrijednosti između skupine bolesnika koja je prethodno primila rituksimab i skupine koja nije liječena ovim monoklonskim protutijelom (medijani 37.70 prema $49.80 \times 10^6 / L$). Međutim, to se može objasniti višom starosnom dobi bolesnika u skupini koja primala terapiju (medijani 53.50 prema 45.00 godina) koja je utjecala na rezultate, odnosno s dijagnozom i prijetransplantacijskim liječenjem koje je primila skupina liječena rituksimabom. Rezultati istraživanja (Hoerr et al. 2004) govore da primjena pretransplantacijskog rituksimaba nije utjecala na mobilizaciju matičnih stanica, rane posttransplantacijske komplikacije, duljinu hospitalizacije ili stopu mortaliteta 30 odnosno 100 dana nakon ATKMS. Može se zaključiti da je primjena rituksimaba bez negativnih učinaka na sposobnost mobilizacije i prikupljanje matičnih stanica.

Zbog premalog uzorka nismo mogli analizirati skupinu bolesnika koja je prethodno primala terapijske protokole koji uključuju fludarabin (N = 2 prema N = 54). Unatoč

statistički neupotrebljivom uzorku, spomenut ćemo da su vrijednosti medijana CD34+ u PK bila daleko ispod vrijednosti medijana za NHL (5.2 i 16.2 prema $39.95 \times 10^6 / L$). Oba bolesnika su više životne dobi (>60 godina), a također su prošli velik broj kemoterapijskih ciklusa (20 i 14) što može objasniti njihov smanjeni mobilizacijski potencijal. Negativan utjecaj fludarabina primijećen je još prije 15 godina kod bolesnika s dijagnozom uznapredovalog ne-Hodgkinovog limfoma niskog gradusa (LG-NHL). Terapija fludarabinom tada je nadomještena agresivnijim modalitetima koji uključuju ATKMS. Međutim, pokazalo se da ti pacijenti mnogo slabije mobiliziraju krvotvorne matične stanice i da je neuspjeh prikupljanja dovoljnog broja CD34+ stanica za postupak transplantacije poprilično visok. Jedno rano istraživanje je pokazalo kako u usporedbi bolesnika liječenih CHOP protokolom i fludarabinom, medijan prikupljenih CD34+ stanica iznosi 6.35 prema $1.67 \times 10^6 / kg$, što znači da niti jedan bolesnik fludarabinom nije prikupio transplantacijsku dozu (6/7 liječenih CHOP protokolom jesu). (Laszlo et al. 1999). U kasnijim istraživanjima (Morgan et al. 2004) postotak uspjeha prve mobilizacije i prikupljanja (LG-NHL bolesnici prethodno tretirani fludarabinom, G-CSF 5 – 12 mcg/kg dva puta dnevno kada je korišten kao jedini mobilizacijski agens) iznosio je i dalje neprihvatljivih 33%. Također, multifaktorska analiza u istraživanju Herbert et al. 2009 je uključila varijable spol, histološku dijagnozu, zahvaćenost koštane srži i celularnost koštane srži, dob, vrijednost hemoglobina, broj leukocita, broj trombocita, kumulativnu dozu fludarabina i vrijeme od posljednje primjene fludarabina. Pokazalo se da kraće vrijeme od posljednje primjene fludarabina statistički značajno korelira s neuspjehom mobilizacije, kao i s manjim apsolutnim prinosom CD34+ stanica. Konačno, možemo zaključiti da je prethodna terapija fludarabinom, iako s obzirom na epidemiološki status folikularnog među svim patohistološkim dijagnozama limfoma (3.18%, Morton et al. 2006), veoma bitan prediktor za negativan ishod mobilizacije.

Terapija multiplog mijeloma danas je poboljšana novim lijekovima, kao što je bortezomib. Bortezomib (Velcade) je prvi inhibitor proteasoma primjenjen na ljudima. Može se koristiti kao terapijska opcija prve linije, u liječenju relapsa ili kao ponovni tretman bolesti bortezomibom. Rezultati naše studije su pokazali da prethodna terapija bortezomibom nema statistički značajan utjecaj na sposobnost mobilizacije CD34+ stanica. Medijani mobiliziranih CD34+ stanica su gotovo jednaki između skupine koja je primala i skupine koja nije primala ovaj lijek (46.10 prema $45.35 \times 10^6 / L$). Postoje kako pretklinički, tako i klinički dokazi da bortezomib nema učinak na funkciju krvotvornih matičnih stanica i na vrijeme oporavka krvotvorne funkcije koštane srži nakon transplantacije matičnih stanica (engraftment).

Podatci iz dvije studije druge faze kliničkog istraživanja terapijskog protokola bortezomib plus deksametazon na bolesnicima sa suboptimalnim odgovorom na bortezomib kao monoterapiju pokazali su kako taj protokol liječenja ne utječe na prikupljanje matičnih stanica (medijani prikupljenih stanica 6.7 i $6.3 \times 10^6 / L$). Nadalje, postoje dokazi kako bortezomib u sklopu PAD terapijskog protokola (bortezomib, doksorubicin, deksametazon) nema utjecaja na mobilizaciju matičnih stanica (medijan prikupljenih stanica $3.8 \times 10^6 / L$). Slični rezultati su dobiveni i za druge protokole liječenja koji uključuju bortezomib. Naposljetku, jedna studija je pokazala kako primjena dvaju 21-dnevna ciklusa bortezomiba prije intenzivne kemoterapije i ATKMS nema nikakvog učinka na prikupljane KMS. (Oakervee et al. 2007) Nameće se zaključak da bortezomib kao zaseban terapijski agens nema utjecaja na mobilizaciju, prikupljanje i ishod transplantacije krvotvornih matičnih stanica.

Talidomid, lijek koji je povučen s tržišta zbog jake teratogenosti, ponovno se vratio u kliničku praksu zbog liječenja nekoliko dijagnoza, među kojima je i multipli mijelom. To je u gotovo tri destljeća prvi novi lijek za liječenje multiplog mijeloma. Pokazalo se da terapijski protokoli zasnovani na talidomidu (talidomid-deksametazon) rezultiraju značajno boljim terapijskim odgovorom (barem parcijalni odgovor na terapiju 76% prema 52% za standardni VAD protokol), smanjenjem toksicitetom i smanjenjem tumorske mase (mjereno veličinom rezidualnih monoklonalnih imunoglobulina). (Cavo et al. 2005) Budući da je autologna transplantacija najefikasnija strategija liječenja novodijagnosticiranog multiplog mijeloma, u istoj studiji je promatran i mogući učinak talidomida na mobilizaciju i prikupljanje KMS. Prema njihovim rezultatima, 83% pacijenata je doseglo minimalan broj od $4 \times 10^6 / kg$ CD34+ stanica (88% u kontrolnoj grupi), što je broj stanica dovoljan i za tandem-transplantaciju, uz medijan prikupljenih CD34+ stanica $7.85 \times 10^6 / kg$ (prema $10.5 \times 10^6 / kg$ za VAD kontrolnu grupu). Zbog premalog broja pacijenata podvrgnutih terapiji talidomidom u našoj bazi podataka ($N = 2$, nije primijenjen $N = 73$) nismo imali mogućnost statistički analizirati utjecaj ovog lijeka na mobilizaciju matičnih stanica. I druge, kasnije provedene studije su pokazale slične rezultate (Breitkreuz et al. 2005).

Naše istraživanje nije uspjelo pokazati statistički značajnu povezanost između broja leukocita i trombocita i sposobnosti mobilizacije. Međutim, spomenut ćemo da su vrijednosti dobivene u našem istraživanju bile na granici statističke značajnosti (za leukocite $p = 0.186$, za trombocite $p = 0.096$). Istraživanje Kuitinen et al. iz 2004 je pokazalo da kod bolesnika s NHL nizak broj leukocita i trombocita predstavlja prediktivan faktor za neuspjeh mobilizacije

(univarijatna analiza). Kada je primjenjena multivarijatna analiza, samo se broj trombocita na dan afereze pokazao kao značajan prediktor za neuspjeh mobilizacije. Slične rezultate je dala i studija Hosing et al. iz 2009.gdje je $<150 \times 10^9 / L$ trombocita neposredno prije mobilizacije identificirano kao značajan prediktor neuspjeha mobilizacije.

Budući da je broj CD34+ stanica perifernoj krvi u stanju dinamičke ravnoteže s brojem stanica u koštanoj srži, tijekom afereze dolazi do otpuštanja novih matičnih u perifernu krv. Veličina tog efekta se može mjeriti uspoređivanjem apsolutnog broja CD34+ stanica na dan afereze i apsolutnog broja CD34+ stanica u pripravku matičnih stanica. Naše istraživanje je pokazalo da između različitih protokola mobilizacije postoji statistički značajna razlika u veličini regrutacije. Tako je ta vrijednost najveća u slučajevima kemomobilizacije uz potporu pleriksafom, nešto manja za standardnu kemomobilizaciju (filgrastimom i pegfilgrastimom), dok „steady-state“ mobilizacija rezultira još stupnjem regrutacije. Posebno treba izdvojiti rezultat za mobilizaciju faktorima rasta uz potporu pleriksafom koji je pokazao najslabiji stupanj regrutacije što se može pripisati specifičnim osobinama pacijenata (viša dob, veći broj ciklusa kemoterapije, odnosno primjena pleriksafora kod slabih mobilizatora).

9. ZAKLJUČCI

- Starija dob (>60 godina) je negativan prediktivni čimbenik za sposobnost mobilizacije KMS.
- Dijagnoza (non-Hodgkinov limfom) je negativan prediktivni čimbenik za sposobnost mobilizacije KMS.
- Prethodna terapija rituksimabom kod bolesnika s non-Hodgkinovim limfomom nema utjecaja na sposobnost mobilizacije KMS.
- Prethodna terapija fludarabinom kod bolesnika s non-Hodgkinovim limfomom je negativan prediktivni čimbenik na sposobnost mobilizacije KMS.
- Prethodna terapija bortezomibom kod bolesnika s multiplim mijelomom nema utjecaja na sposobnost mobilizacije KMS.
- Prethodna terapija talidomidom kod bolesnika s multiplim mijelomom ima minimalan utjecaj na sposobnost mobilizacije KMS uz istovremeno bolji odgovor na terapiju u odnosu na konvencionalni VAD.
- Nizak broj leukocita i osobito nizak broj trombocita na dan afereze su prediktivan čimbenik za neuspjeh mobilizacije KMS.

10. LITERATURA

- [1] Afifi S, Adel NG, Devlin S, Duck E, Vanak J, Landau H, Chung DJ, Lendvai N, Lesokhin A, Korde N, Reich L, Landgren O, Giralt S, Hassoun H (2016) Upfront plerixafor plus G-CSF versus cyclophosphamide plus G-CSF for stem cell mobilization in multiple myeloma: efficacy and cost analysis study. *Bone Marrow Transplant* 51: 546–552.
- [2] Antar A, Otrrock ZK, Kharfan-Dabaja MA, Ghaddara HA, Kreideh N, Mahfouz R, Bazarbachi A (2015) G-CSF plus preemptive plerixafor vs hyperfractionated CY plus G-CSF for autologous stem cell mobilization in multiple myeloma: effectiveness, safety and cost analysis. *Bone Marrow Transplant* 50: 813-817.
- [3] Basak GW, Jakšić O, Koristek Z, Mikala G, Basic-Kinda S, Mayer J, Masszi T, Giebel S, Labar B, Wiktor-Jedrzejczak W (2011) Haematopoietic stem cell mobilization with plerixafor and G-CSF in patients with multiple myeloma transplanted with autologous stem cells. *Eur J Haematol* 86: 488-495.
- [4] Björkstrand B, Ljungman P, Svensson H, Hermans J, Alegre A, Apperley J, Blade J, Carlson K, Cavo M, Ferrant A, Goldstone AH, de Laurenti A, Majolino I, Marcus R, Grant Prentice H, Remes K, Samson D, Sureda A, Verdonck LF, Volin L, Gahrton G (1996) Allogeneic bone marrow transplantation versus autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: a retrospective case-matched study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 88: 4711-4718.
- [5] Bojanić I (2009) Sakupljanje krvotvornih matičnih stanica iz krvi postupkom leukaferenze velikog volumena krvi, doktorska disertacija. Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet.
- [6] Bojanić I, Dubravčić K, Batinić D, Golubić Čepulić B, Mazić S, Hren D, Nemet D, Labar B (2011) Large volume leukapheresis: Efficacy and safety of processing patient's total blood volume six times. *Transfusion and Apheresis Science* 44: 139–147.

- [7] Breitkreuz I, Lokhorst HM, Raab MS, van der Holt B, Herrman B, Glasmacher A, Schmidt-Wolf IGH, Blau IW, Martin H, Salwender H, Haenel A, Sonneveld P, Goldschmidt H (2007) Thalidomide in newly diagnosed multiple myeloma: influence of thalidomide treatment on peripheral blood stem cell collection yield. *Leukemia* 21:1294-1299.
- [8] Bruno B, Auner H W, Gahrton G , Garderet L, Festuccia M, Ladetto M, Lemoli R M, Massaia M, Morris C, Palumbo A, Schönland S, Boccadoro M, Kröger N (2016) Stem cell transplantation in multiple myeloma and other plasma cell disorders (report from an EBMT preceptorship meeting). *Leuk Lymphoma*, DOI: 10.3109/10428194.2015.1131278
- [9] Cavo M, Zamagni E, Tosi P, Tacchetti P, Cellini C, Cangini D, de Vivo A, Testoni N, Nicci C, Terragna C, Grafone T, Perrone G, Ceccolini M, Tura Sante, Bacarani M (2005) Superiority of thalidomide and dexamethasone over vincristine-doxorubicin-dexamethasone (VAD) as primary therapy in preparation for autologous transplantation for multiple myeloma. *Blood* 106:35-39.
- [10] Child JA, Morgan GJ, Davies FE, Owen RG, Bell SE, Hawkins K, Brown J, Drayson MT, Selby PJ (2003) High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med* 348: 1875-83.
- [11] Costa LJ, Miller AN, Alexander ET, Hogan KR, Shabbir M, Schaub C, Stuart RK (2011) Growth factor and patient-adapted use of plerixafor is superior to CY and growth factor for autologous hematopoietic stem cells mobilization. *Bone Marrow Transplant* 46: 523–528.
- [12] DiPersio JF, Micallef IN, Stiff PJ, Bolwell BJ, Maziarz RT, Jacobsen E, Nademanee A, McCarty J, Bridger G, Calandra G (2009) 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* 27:4767-4773.

- [13] Dippersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, Micallef INM, Stiff PJ, Kaufman JL, Maziarz RT, Hosing C, Früehauf S, Horwitz M, Cooper D, Bridger G, Calandra G (2009) 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* 113: 5720-5726.
- [14] Dugan MJ, Maziarz RT, Bensinger WI, Nademanee A, Liesveld J, Badel K, Dehner C, Gibney C, Bridger G, Calandra G (2010) 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* 45: 39-47.
- [15] Duong HK, Savani BN, Copelan E, Devine S, Costa LJ, Wingard JR, Shaughnessy P, Majhail N, Perales MA, Cutler CS, Bensinger W, Litzow MR, Mohty M, Champlin RE, Giralt S, Carpenter PA (2014) Peripheral Blood Progenitor Cell Mobilization for Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Guidelines of the American Society for Blood and Marrow Transplantation, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 20: 1262-73.
- [16] Gertz MA, Wolf RC, Micallef INM, Gastineau DA (2010) Clinical impact and resource utilization after stem cell mobilization failure in patients with multiple myeloma and lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 45: 1396-1403.
- [17] Greenbaum AM, Link DC (2010) Mechanisms of G-CSF-mediated hematopoietic stem and progenitor mobilization. *Leukemia* 25: 211-217.
- [18] Hoerr AL, Gao F, Hidalgo J, Tiwari D, Blum KA, Mathews V, Adkins DA, Blum W, Devine S, Vij R, Goodnough LT, DiPersio JF, Khoury HJ (2004) Effects of pretransplantation treatment with rituximab on outcomes of autologous stem-cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 22:4561-4566.
- [19] Hosing C, Saliba RM, Ahlawat S, Körbling M, Kebriaei P, Alousi A, De Lima M, Okoroji J, McMannis J, Qazilbash M, Anderlini P, Giralt S, Champlin RE, Khouri I, Popat U (2009) Poor hematopoietic stem cell mobilizers: A single

institution study of incidence and risk factors in patients with recurrent or relapsed lymphoma. *Am J Hematol* 84: 335–337.

- [20] Hübel K, Fresen MM, Apperley JF, Basak GW, Douglas KW, Gabriel IH, Gerald C, Jakšić O, Koristek Z, Kröger N, Lanza F, Lemoli RM, Mikala G, Selleslag D, Worel N Mohty M, Duarte RF (2012) 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* 47: 1046-1050.
- [21] Kuittinen T, Nousiainen T, Halonen P, Mahlamäki E, Jatunen E (2004) Prediction of mobilisation failure in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 33:907-912.
- [22] Laszlo D, Galieni P, Raspadori D, Scalia G, Bigazzi C, Bocchia M, Bucalossi A, Marota G, Tozzi M, Lauria F (1999) Fludarabine containing-regimens may adversely affect peripheral blood stem cell collection in low-grade non-Hodgkin lymphoma patients. *Leuk Lymphoma*, 37:157-161.
- [23] Lenhoff S, Hjorth M, Holmberg E, Turesson I, Westin J, Lanng Nielsen J, Wislöff F, Brinch L, Carlson K, Carlsson M, Dahl IM, Gimsing P, Hippe E, Johnsen HE, Lamvik J, Löfvenberg E, Nesthus I, Rödger S (2000) Impact on survival of high-dose therapy with autologous stem cell support in patients younger than 60 years with newly diagnosed multiple myeloma: a population-based study. *Blood* 95: 7-11.
- [24] Li J, Hamilton E, Vaughn L, Graiser M, Renfro H, Lechowicz MJ, Langston A, Prichard JM, Anderson D, Gleason C, Lonial S, Flowers CR, Kaufman JL, Waller EK (2011) Effectiveness and cost analysis of „just-in-time“ salvage plerixafor administration in autologous transplant patients with poor stem cell mobilization kinetics. *Transfusion* 51: 2175-2182.
- [25] Kouroukis CT, Rumble RB, Kuruvilla J, Crump M, Herst J, Hamm C (2013) *Stem Cell Transplantation in Lymphoma*. Toronto (ON): Cancer Care Ontario (CCO); 2012 Dec 13. Program in Evidence-based Care (PEBC) Recommendation Report No.: SCT-4.

- [26] Kumar S, Dispanzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Gastineau DA, Litzow MR, Fonseca R, Roy V, Rajkumar SV, Gertz MA (2007) Impact of lenalidomide therapy on stem cell mobilization and engraftment post-peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed myeloma. *Leukemia* 21: 2035–2042.
- [27] Malard F, Kröger N, Gabriel IH, Hübel K, Apperley JF, Basak GW, Douglas KW, Gheraldes C, Jakšić O, Koristek Z, Lanza F, Lemoli R, Mikala G, Selleslag D, Worel N, Mohty M, Duarte RF (2012) Plerixafor for autologous peripheral blood stem cell mobilization in patients previously treated with fludarabine or lenalidomide. *Biol Bone Marrow Transplant* 18: 309-329.
- [28] Micallef INM, Ho AD, Klein LM, Marulkar S, Gandhi PJ, McSweeney PA (2010) Plerixafor (Mozobil) for stem cell mobilization in patients with multiple myeloma previously treated with lenalidomide. *Bone Marrow Transplant* 46: 350-355.
- [29] Micallef INM, Sinha S, Gastineau DA, Wolf R, Inwards DJ, Gertz MA, Hayman SR, Hogan WJ, Johnston PB, Lacy MQ, Ansell SM, Buadi F, Dighli D, Dispanzieri A, Litzow MR, Porrata LF, Winters JL, Kumar S (2013) Cost-effectiveness analysis of a risk-adapted algorithm of plerixafor use for autologous peripheral blood stem cell mobilization. *Biol Blood Marrow Transplant* 19: 87-93.
- [30] Milpied N, Deconinck E, Gaillard F, Delwail V, Foussard C, Berthou C, Gressin R, Lucas V, Colombat P, Harousseau J (2004) Initial treatment of aggressive lymphoma with high-dose chemotherapy and autologous stem-cell support. *N Engl J Med* 350: 1287-1295.
- [31] Mohty M, Hübel K, Kröger N, Aljurf M, Apperley J, Basak GW, Bazarbachi A, Douglas K, Gabriel I, Garderet L, Gheraldes C, Jakšić O, Kattan MW, Koristek Z, Lanza F, Lemoli RM, Mendeleeva L, Mikala G, Mikhailova N, Nagler A, Schouten HC, Selleslag D, Suciú S, Sureda A, Worel N, Wuchter P, Chabannon C, Duarte RF (2014) Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: a position statement from the Europe-an group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 49: 865-872.

- [32] Morgan SJ, Seymour JF, Grigg A, Matthews JP, Prince HM, Wolf MM, Januszewicz EH (2004) *Leukemia* 18: 1034–1038.
- [33] Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS (2006) Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood* 107: 265-276.
- [34] Nervi B, Link DC, DiPersio JF (2006) Cytokines and hematopoietic stem cell mobilization. *J Cell Biochem* 99: 690–705.
- [35] Oakervee H, Popat R, Cavenagh JD (2007) Use of bortezomib as induction therapy prior to stem cell transplantation in multiple myeloma: Impact on stem cell harvesting and engraftment. *Leuk Lymphoma* 48:1910-1921.
- [36] Ozkan HA, Bal C, Gulbas Z (2014) Chemomobilization with high-dose etoposide and G-CSF results in effective and safe stem cell collection in heavily pretreated lymphoma patients: report from a single institution study and review. *Eur J Haematol* 92: 390-397.
- [37] Popat U, Saliba R, Thandi R, Hosing C, Quazilbash M, Anderlini P, Shpall E, McMannis J, Körbling M, Alousi A, Andersson B, Nieto Y, Kebriaei P, Khouri I, de Lima M, Weber D, Thomas S, Wang M, Jones R, Champlin R, Giralt S (2009) Impairment of filgrastim-induced stem cell mobilization after prior lenalidomide in patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 15: 718-723.
- [38] Pusic I, Jiang SY, Landua S, Uy GL, Rettig MP, Cashen AF, Westervelt P, Vij R, Abboud CN, Stockerl-Goldstein K, Sempek DS, Smith AL, DiPersio JF (2008) Impact of mobilization and remobilization strategies on achieving sufficient stem cell yields for autologous transplantation. *Biol Blood and Marrow Transplant* 14: 1045-1056.
- [39] Schmitz N, Linch DC, Dreger P, Goldstone AH, Boogaerts MA, Ferrant A, Demuyneck HMS, Link H, Zander A, Barge A, Borkett K (1996) Randomised trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients. *Lancet* 347: 353-357.

- [40] Shaughnessy P, Islas-Ohlmayer M, Murphy J, Hougham M, MacPherson J, Winkler K, Silva M, Steinberg M, Matous J, Selvey S, Maris M, McSweeney PA (2011) Cost and clinical analysis of autologous hematopoietic stem cell mobilization with G-CSF and plerixafor compared to G-CSF and cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 17: 729-736.
- [41] Winkler IG, Levesque JP (2006) Mechanisms of hematopoietic stem cell mobilization: When innate immunity assails the cells that make blood and bone. *Exp Hematol* 34: 996-1009.
- [42] Wood WA, Whitley J, Moore D, Sharf A, Irons R, Kamakshi R, Serody J, Coghill J, Gabriel D, Shea T (2011) Chemomobilization with etoposide is highly effective in patients with multiple myeloma and overcomes the effects of age and prior therapy. *Biol Bone Marrow Transplant* 17: 141-146.
- [43] Wuchter P, Ran D, Bruckner T, Schmitt T, Witzens-Harig M, Neben K, Goldschmidt H, Ho AD (2010) Poor mobilization of hematopoietic stem cells—definitions, incidence, risk Factors, and impact on outcome of autologous transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 16: 490-499.
- [44] Zhou P, Liu P, Zhou SY, He XH, Han XH, Qin Y, Yang S, Zhang CG, Gui L, Yao JR, Zhao LY, Zhang SX, Sun Y, Shi YK (2015) Ifosfamide, cisplatin or carboplatin, and etoposide (ICE)-based chemotherapy for mobilization of autologous peripheral blood stem cells in patients with lymphomas. *Chin Med J* 128: 498-504.

11. ZAHVALE

U prvom redu zahvaljujem svome mentoru prof. dr. sc. Ozrenu Jakšiću na ljubaznosti, susretljivosti, strpljenju, pomoći i vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

Hvala prijateljima, kolegama i poznanicima koji su me podržavali kroz ovaj životni period i bili čvrst oslonac kada je to bilo najpotrebnije.

Na kraju, najveća hvala djevojci, roditeljima i obitelji bez kojih sav moj uspjeh ne bi bio moguć.

12. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI:

Ime i prezime: Marko Matašin

Datum i mjesto rođenja: 15. rujna 1991., Bjelovar

OBRAZOVANJE:

1998. – 2006. IV. Osnovna škola Bjelovar

2006. – 2010. Prirodoslovno-matematička gimnazija Bjelovar

2010. – 2016. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu