

616.71-018.46-089.843

TRANSPLANTACE KMENOVÝCH BUNĚK KRVETVORBY Z PERIFERNÍ KRVĚ – PRVNÍ ZKUŠENOSTI

Plk. doc. MUDr. Milan BLÁHA, CSc., MUDr. Vladimír MAISNAR, pplk. MUDr. Ladislav JEBAVÝ, CSc., MUDr. Pavel MĚŘIČKA, MUDr. Jiří RONDIAK, doc. MUDr. Karel ŠULC, CSc., MUDr. Jaroslav VAŇÁSEK

Vojenská lékařská akademie JEP, Hradec Králové
(náčelník: plk. doc. MUDr. Josef Fusek, DrSc.)
II. vnitřní klinika FN KÚNZ, Hradec Králové
(přednosta: prof. MUDr. Vladimír Pidrman, DrSc.)
Tkáňová ústředna FN KÚNZ, Hradec Králové
(přednosta: MUDr. Pavel Měřička)
Krajská transfúzní stanice KÚNZ, Hradec Králové
(přednosta: MUDr. Jiří Rondiak)
Katedra patologické fyziologie FVL UK, Praha
(přednosta: prof. MUDr. Václav Janoušek, DrSc.)
Radiologická klinika LF UK, Hradec Králové
(přednosta: prof. MUDr. Leo Steinhart, DrSc.)

Počet transplantací kostní dřeně provedených ve světě stoupá (5). Je to někdy jediná možnost, jak prodloužit život a část nemocných dokonce trvale zachránit (zejména u hematologických chorob, především maligních) (8, 17). Jsou prováděny transplantace alogenní, ale stoupá i počet autologních (3, 8). K provedení alogenní transplantace nelze ve většině případů najít vhodného dárce a část nemocných podlehně po výkonu nemoci způsobené reakcí štěpu proti hostiteli. Při autologní transplantaci je dárce nemocný sám pro sebe. Prevence a léčba reakce štěpu proti hostiteli odpadá.

V posledních zhruba deseti letech stoupá i počet autologních transplantací kmenových buněk krvetvorby získaných z periferní krve, neboť bylo zjištěno, že v periferní krvi kolují a lze je za vhodných podmínek získat (15). Dají se použít jak k transplantaci v klasickém slova smyslu, tak i v menším množství k podpůrné léčbě – k rychlejšímu překlenutí cytopenie po léčbě cytostatiky. První úspěšnou transplantaci periferních kmenových buněk popsal Goldman roku 1979 u nemocného s chronickou myelózou (citováno dle: 12). Následovala řada dalších pozitivních sdělení (1–6, 7–24).

Na našem pracovišti se soustavně zabýváme možnostmi podpůrné léčby u imunologicky oslabených nemocných, zejména u hematologických malignit a těžkých útlumů krvetvorby. K léčbě těchto nemocných jsme připravili metodiku transplantaci periferních kmenových buněk. V ČSFR byla použita poprvé, dosud u tří nemocných. V této publikaci chceme zhodnotit naše první zkušenosti a z toho plynoucí další zaměření výzkumu.

Převod kmenových buněk získaných z periferní krve má některé **výhody** proti autologní transplantaci kostní dřeně:

- Výkon méně zatěžuje nemocného: při odběru nemusí být v narkóze a neprovádějí se mu mnohočetné vpichy do kostí. Kmenové buňky se odeberou z periferní krve v několika sezeních separátorem krevních tělísek.

- Výkon je možný i u lidí, u kterých je kostní dřeň na některých místech zničená (např. iradiací v pánevní oblasti, odkud se při autologní transplantaci nejvíce dřeně odebírá).

- V periferní krvi zpravidla nekolují maligní buňky, pokud provádíme odběr v remisi choroby (např. u maligního lymfomu). Složitě čistění („purging“) odebraného koncentrátu pak není nutné, a proto ho většina autorů neprovádí (11, 12, 15–17). Při odběru z kostní dřeně je větší riziko, že nabere i maligní buňky a znovu je transplantujeme nemocnému.

- Zdá se, že i perioda cytopenie je kratší při převodu periferních kmenových buněk nežli po převodu dřeně. V periférii kolují nejen primitivní kmenové buňky, ale i „vyzrálejší“ formy, jež po převodu rychle dozrávají (4).

- Odběr kmenových buněk separátorem lze opakovat několikrát, a získat tak více buněk – pro nemocného to není spojeno se zvláštními obtížemi.

Podle našich zkušeností existují tyto **nevýhody** metodiky oproti autologní transplantaci kostní dřeně:

- Ve srovnání se dřeně koluje v periferní krvi jen 1–10 procent pluripotentních kmenových buněk, proto je nutno převádět 10 až 100krát větší dávky kmenových buněk nežli při podání autologní dřeně (4, 11). Metodika odběru musí být dobře propracována a je vhodné využívat stimulace: bylo zjištěno, že k vyplavení kmenových buněk do periférie vede podání endotoxinů, dextranu, proteolytických enzymů, kortikoidů atd. (5, 22). Bylo také zjištěno, že za 3–4 týdny po první, a to pokud možno intenzivní fázi léčby cytostatiky, kdy nastupuje remise maligní hemoblastózy, je v periferní krvi 10–25krát více kmenových buněk (6, 11).

- Je nutné mít k dispozici vhodný separátor krevních tělísek se zapracovaným týmem.

- Repopulační schopnost kmenových buněk ze dřeně a z periferní krve není stejná. V periférii je více progenitorů pro granulocytární řadu (CFU-GM), ale někdy je nedostatek buněk zadaných pro tvorbu megakaryocytů, takže po transplantaci do-

- cháží k dlouhodobé trombocytopenii (17, 18). Hénon a spol. (11) rozebírají zkušenosti s obsahem tzv. CFU-mix v periferní krvi (z nich vznikají granulocyty, megakaryocyty, erytrocyty a monocyty). V kostní dřeni dobrovolníků je 87 procent FCU-mix, z nichž později mohou vznikat megakaryocyty, ale v periférii jen 18 procent. Poměr je tedy 5 : 1.
- Někteří autoři uvažují o tom, zda množství převedených kmenových buněk z periférie stačí na celý život. Není definitivně rozhodnuto, ale tato námitka pravděpodobně nebude závažná – pacienti žijí po úspěšné transplantaci po léta v dobrém stavu a s normální krvetvorbou (4).
 - Neví se přesně, jaké je nejmenší množství buněk, které je nutno převést, aby transplantace měla úspěch. Názory autorů se liší, např. Koerbling a Martin (17) uvádějí, že stačí 10^4 CFU-GM na 1 kg váhy, ale To a spol. (23, 24) považují za minimum 40×10^4 CFU-GM na 1 kg váhy.

Metody a soubor nemocných

Pracovali jsme se separátorem Travenol CS-3000, který je řízen mikropočítačem. Použili jsme metodiky popsané Koerblingem (17), upřesnění podle návodu firmy Travenol k použití separátoru CS-3000 a proceduru jsme mírně modifikovali podle vlastních dřívějších zkušeností (22). Z krve je nutno oddělit frakci, kde jsou obsaženy lymfocyty. Předpokládá se, že tato frakce obsahuje i nejvíce kmenových buněk. Snažili jsme se využívat výše uvedeného faktu – nejvíce kmenových buněk je v periférii po cytostatické léčbě, a to za tři až pět týdnů (1, 2, 12, 18). Odběry jsme prováděli tak, aby bylo překročeno množství udávané jako minimální účinná dávka podle Koerblinga a Martina – viz výše (17). Ihned po odběru byl materiál zpracován pracovníky KTS a tkáňové ústředny. Používali jsme dvou metod konzervace:

1. Hypotermní skladování materiálu v roztoku CPD, který uchová životaschopné buňky 48 hodin, často však i 72 hodin, jak jsme se sami přesvědčili. Jde o naši modifikaci metodiky podle Burnetta, 1983 (7). Nemocnému se podají cytostatika a do 48 až 72 hodin se vracejí předtím odebrané kmenové buňky.

2. Kryokonzervace: byla provedena po předchozí úpravě suspenze sedimentačně centrifugačním postupem, jehož cílem je snížení objemu, snížení hematokritu a odstranění části plazmy s trombocyty. K usnadnění sedimentace bylo použito modifikovaného roztoku COLIPK 3 (9).

Upravená suspenze byla smísená se stejným objemem kryoprotektivního roztoku obsahujícího 30 (objemových) procent glycerolu a 1 objemové procento lidského albuminu v roztoku COLIPK. Suspenze byla zmrazována v plochem kontejneru z nerez oceli vlastní konstrukce o objemu 180 ml (19).

Rízené zmrazování bylo provedeno ve zmrazovacím zařízení Kryo-10 (Planer Biomed, Sunbury on Thames, Anglie) rychlostí 5 K/min do $+4^{\circ}\text{C}$, 1 K/min do -40°C , 10 K/min do -120°C .

Kontejnery byly skladovány v mechanickém nízkoteplotním zařízení REVCO ULT 1786, Rheem Stientific, Ashville, North Carolina, USA při teplotě -80°C .

V odebraném materiálu jsme sledovali množství CFU-GM, a to po odběru a před podáním nemocnému po rozmrazení. O životnosti buněk jsme se přesvědčovali také supravitálním barvením metylenovou modří (podle Burkera – v: 14). Odebrané kmenové buňky jsme převáděli nemocným s maligními lymfomy, kde byla nepříznivá prognóza (pokročilá stadia nemoci, histologicky nepříznivé formy, výskyt tzv. „bulky“ hmot, časné relapsy). Šlo o tři nemocné – základní údaje jsou v tabulce 1.

Výsledky léčby

Provedli jsme dosud celkem 14 odběrů periferních kmenových buněk, a to u 4 pacientů, a jeden odběr kostní dřeni u dalšího pacienta. V této práci vyhodnocujeme jen odběry periferních kmenových buněk, a to u tří prvních pacientů, protože čtvrtý pacient je k transplantaci teprve připravován (je provedeno 5 odběrů separátorem, materiál byl řízeně zmrazen, je konzervován při teplotě -80°C).

Z hodnocených tří pacientů se podařilo u všech odebrat množství buněk, která byla dostatečná k transplantaci podle kritérií Koerblinga a Martina

Tabulka 1

Základní údaje o nemocných

Pacient	Věk	Diagnóza	Podaný materiál	Ukončení léčby
Z. E. ♀	27	Non-Hodgkinův lymfom IV. A.	3× po hypoter. konzervaci 1× po kryokonzervaci	IX/1988
J. A. ♀	44	Non-Hodgkinův lymfom IV. B.	3× po kryokonzervaci	III/1989
S. O. ♂	61	Non-Hodgkinův lymfom IV. st. relaps	1× po hypotermní konzervaci	V/1988

Tabulka 2

Výtěžky při leukaferézách

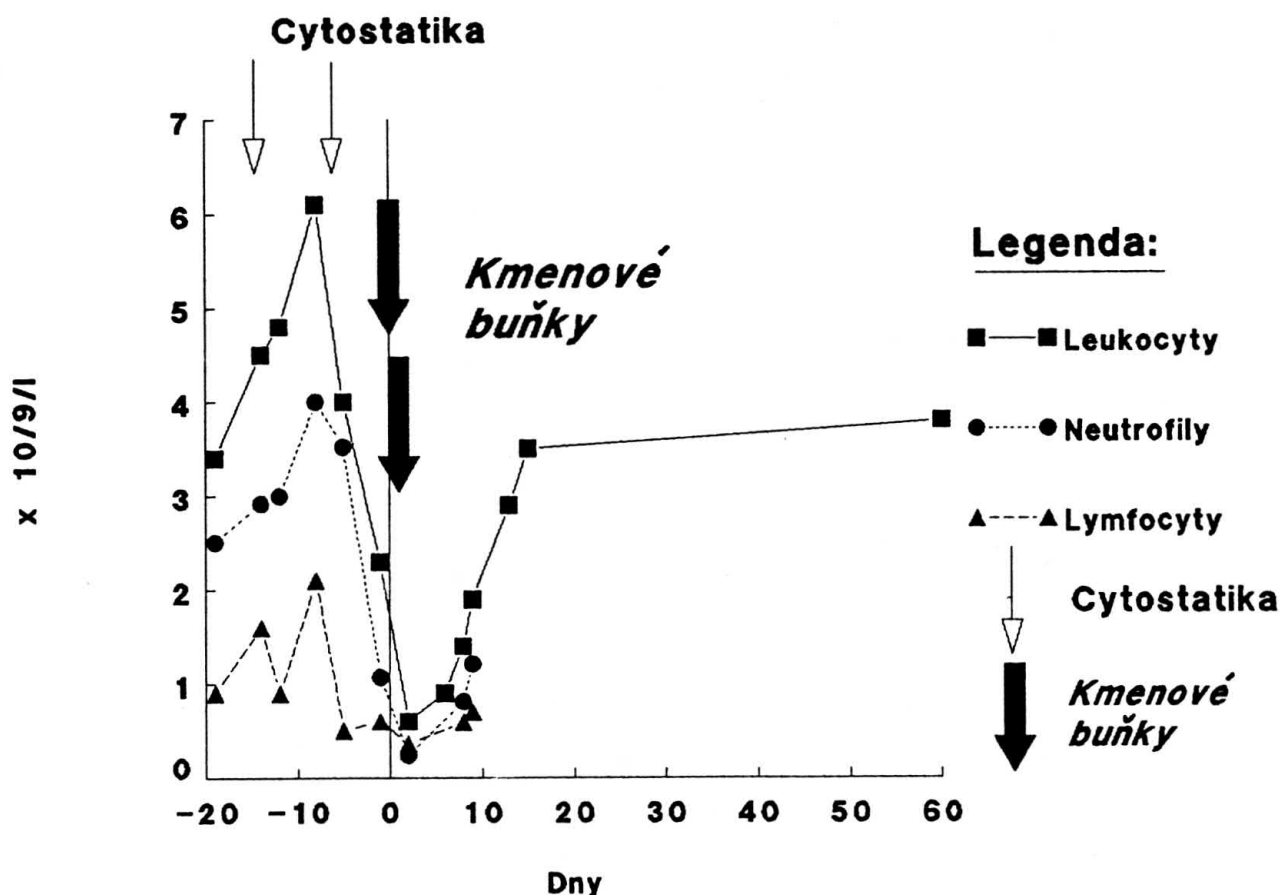
Separace číslo	Množství odebraných jaderných/mononukleárních buněk na 1 kg váhy pacienta			Množství CFU-GM na 1 kg váhy		
	Pacient			Pacient		
	Z. J.	J. A.	S. O.	Z. J.	J. A.	S. O.
1	$2,09 \cdot 10^8$ $2,09 \cdot 10^8$	$0,9 \cdot 10^8$ $0,58 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^8$ $2,0 \cdot 10^8$	$8,04 \cdot 10^4$	$8,34 \cdot 10^4$	$6,0 \cdot 10^4$
2	$1,02 \cdot 10^8$ $1,02 \cdot 10^8$	$0,8 \cdot 10^8$ $0,77 \cdot 10^8$		$4,9 \cdot 10^4$	$9,55 \cdot 10^4$	
3	$0,7 \cdot 10^8$ nevyšetřeno	$1,1 \cdot 10^8$ $0,6 \cdot 10^8$		$5,3 \cdot 10^4$	$7,68 \cdot 10^4$	
4	$0,3 \cdot 10^8$ $0,27 \cdot 10^8$			nevyšetřeno		
5	$1,7 \cdot 10^8$ $1,68 \cdot 10^8$			nevyšetřeno		
Celkem	$5,81 \cdot 10^8$?	$2,9 \cdot 10^8$ $2,4 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^8$ $2,0 \cdot 10^8$	?	$22,5 \cdot 10^4$	$6,0 \cdot 10^4$

Legenda: ve zlomku jsou zapsány počty jaderných buněk (čitatel) a z toho mononukleárních (jmenovatel)

(17) – viz tabulka 2. Hodnocení vitality buněk ukázalo, že průměrně přežívá 83 procent CFU-GM (podle výsledků kultivace po rozmrazení materiálu). S tím prakticky souhlasí výsledky supravitálního barvení (průměrně žije 85 procent buněk).

Klinické výsledky je nutno hodnotit jen předběžně. Počet pacientů je dosud malý, doba od ukončení léčby je krátká k posouzení trvalosti remise – statistické hodnocení jsme proto neprováděli. Nejvíce převodů dostala pacientka Z. J. Materiál z prvního odběru koaguloval, ale další čtyři odběry byly převedeny (třikrát po hypotermní konzervaci, jednou po půlroční kryokonzervaci) – viz tabulka 1. Nemocná je dosud v trvalé remisi, léčba byla ukončena v září 1988. Zajímavý je i případ nemocného S. O. Šlo o lymfogranulom, kde přes veškerou léčbu vznikla v oblasti pravého pectorálního svalu směrem do podpaží velká nádorová hmota („bulky hmota“) 15×15 cm. Cytostatická léčba již byla obtížná pro následné pancytopenie. Z jediného odběru se však podařilo získat velké množství kmenových buněk (viz tab. 2). Další odběry byly plánovány, ale znemožněny poruchou separátoru. Po intenzivní cytostatické léčbě a podání odebraných kmenových buněk nedošlo k očekávané těžké a dlouhé pancytopenii a bulky hmota zcela vymizela. Nemocný je od ukončení léčby v květnu 1988 bez obtíží.

Blíže uvedeme případ nemocné J. R. Věk a diagnóza jsou uvedeny v tabulce 1. Protože u ní vznikl po intenzivní léčbě a navození remise relaps, byla znovu léčena cytostatiky. Při tom byly provedeny tři odběry periferních kmenových buněk (15. 2., 1. 3., 22. 3. 1989). Podařilo se získat celkem $22,5 \times 10^4$ CFU-GM ($2,40 \times 10^8$ mononukleárních buněk) na kg váhy nemocné. Materiál byl zmražen a uschován. 28. 3. 1989 byla zahájena cytostatická léčba (1. den vinkristin 2 mg, cyklofosamid 1000 mg, 8. den bleomycin 15 mg, adriblastin 80 mg, vinblastin 10 mg, prednison po dobu 14 dní 200 mg denně), která sice není podle dávek příliš razantní, ale předchozí zkušenost u nemocné ukazovala, že po obdobných dávkách docházelo k značné a protrahované pancytopenii. K výrazné leukopenii také došlo. Průběh léčby je zachycen na grafu č. 1. Dne 11. dubna dostala nemocná do žíly 150 ml (1 kontejner) rozmrazeného koncentrátu periferních kmenových buněk a další den dvojnásobek. Vedlejší reakce nebyly. Graf č. 1 ukazuje, že již 6. den po převodu byl zaznamenán první vzestup počtu granulocytů. Nemocná byla propuštěna bez obtíží 16. den po převodu a je dosud v plné remisi. Celkem jsme jí převedli podle měření po rozmrazení $1,59 \times 10^8$ mononukleárních buněk na 1 kg tělesné váhy, podle supravitálního barvení bylo 84 procent buněk živých a podle výsledků kultivace 80 procent



Graf 1 Příklad nemocné Z. J.

cent původně odebraných CFU-GM. Na grafu č. 1 není zahrnut pokles trombocytů – nebyl v tomto případě příliš velký. Minimální hodnoty po cytostaticích dosáhly dne 13. 4. 1989 hodnoty $37 \times 10^9/l$ a normalizovaly se relativně rychle. Dne 26. 4. 1989 přesáhly hodnoty $110 \times 10^9/l$.

Diskuse

Naše zkušenosti s transplantací periferních kmenových buněk jsou dosud iniciální a nelze dělat definitivní a statisticky podložené závěry. Můžeme však shrnout:

- Metodika je použitelná na pracovištích, která nejsou úzce specializovaná na transplantaci kostní dřeně. Provádět alogenní transplantaci na soudobé úrovni je podstatně náročnější, a to medicínsky i ekonomicky. Provedení 15 odběrů na našich pracovištích znamenalo, že metodika již vykazuje standardní výsledky, jsou navozeny vzájemné vztahy a návaznost. Léčba probíhá na interní klinice, kde jsou léčeni nemocní na jednotce intenzivní hematologické péče v reverzní izolaci, předtím byli léčeni obvykle na radiologické klinice (diagnostika, cytostatická a radiční terapie). Materiál zpracovává tým pracovníků tkáňové ústředny a KTS. Separční metodiku a kultivace kmenových buněk pro-

vádějí pracovníci vedení doc. Šulcem z FVL UK Praha, katedra patologické fyziologie. Týmová spolupráce je nutná.

- I když jde jen o klinický dojem, byla léčba u všech tří nemocných úspěšná. Trvá remise ve všech případech. Důležité bude, jaká bude její délka. Pozitivně hodnotíme, že jsme dosud nepozorovali vedlejší reakce.

Léčba periferními kmenovými buňkami má však podle našich zkušeností dosud řadu **sporných bodů**. Tak např. dodržet zásadu odběru buněk za 3–5 týdnů po podání intenzivní cytostatické léčby, a to ještě pokud možno hned při navozování první remise, se nám nepodařilo. Z důvodů medicínských i technických je nutno léčbu modifikovat, ale ani bez toho nelze často v začátku choroby říci, který pacient bude opravdu ohrožen brzkým relapsem a kde naopak není transplantace nutná. Léčit stačíme z kapacitních důvodů jen zlomek indikovaných lidí. Zatím jsme vůbec neprováděli léčbu leukemiků, myelomu anebo jiných ve světě s úspěchem léčených chorob. Budeme muset také získat vlastní přesvědčení o minimální účinné dávce k převodu kmenových buněk, protože i literatura to zdůrazňuje na základě rozporných názorů, z nichž část je přičítána rozdílným kultivačním technikám a dalším nejednotným postupům pracovišť.

Zajímavý je i jeden z vojenských aspektů léčby: bude snad (jako alogenní převod) použitelná u ozářených, ale literárních údajů nebo názorů je málo. I pro havárie v jaderné energetice se jeví autologní převod vhodný, snad v některých případech jen jako podpůrná léčba. Protože je odběr buněk méně náročný, vzniká jistá renesance názorů na odběr a uchovávání kmenových buněk u pracovníků ohrožených zářením, pracujících v jaderné energetice. Sběr buněk je pro pracovníky přijatelnější, ale zlepšily se i metody konzervace a materiál pravděpodobně vydrží několik let, bude-li realizována konzervace v kapalném dusíku v některém ze širokohrdlých biologických kontejnerů, např. BK 200 A Ferroxx Děčín, ČR. Na tento aspekt by se měl v nejbližším budoucnu zaměřit výzkum pracovníků Tkáňové ústředny v Hradci Králové.

Případ nemocné J. A. ukazuje, že regenerace krvetvorby a vzestup počtu leukocytů po převodu periferních kmenových buněk nastává zhruba o týden dříve nežli po autologní transplantaci kostní dřeně (tam dochází k vzestupu elementů v periférii za 2–3 týdny) – což je v souladu s literárními údaji (4, 15). Je to jistě velmi důležité, zkrátí se perioda těžké leukopenie, kdy dochází k nebezpečným infekčním komplikacím, jak jsme se sami přesvědčili. Je to jedna z velkých předností transplantace periferních kmenových buněk. V budoucnu se však bude nutno zaměřit na metodiky, které zajistí i dostatečný počet předchůdců megakaryocytů v koncentrátech. Protahovaná trombocytopenie po transplantaci, o které jsme se zmínili výše, je nepříjemným stavem, nutí k opakovaným podáním destiček, po čase však na ně vzniká rezistence a objevují se imunologické reakce.

Mnoho se v literatuře diskutuje, zda účinnost autologní transplantace kostní dřeně a také periferních kmenových buněk není u leukemiků významně nižší proto, že odpadá „reakce štetu proti leukémii“, to jest ničivý účinek imunologicky ne zcela shodné dřeně na příjemcovu krvetvorbu, a pokud je to krvetvorba leukemická, tedy vlastně léčebný efekt (1, 2). Domníváme se, že tato skutečnost svoji úlohu hraje, ale přesto je autologní transplantace dostatečně účinná a stejně tak i převod periferních kmenových buněk.

Stejně živá je i otázka, nakolik existuje při autologní transplantaci kostní dřeně a periferních kmenových buněk nebezpečí přenosu maligních buněk a zda je nutné materiál před přenosem zbavovat nádorových buněk („purging“). Řada pracovišť provádí náročné metodiky, ale zejména při odběru kmenových buněk z periférie se to nepovažuje za nutné. Bylo také poukázáno na fakt, že malé množství nádorových buněk se po podání prokazatelně zadrží a zničí v plicním řečišti, není tedy nebezpečné (12). Na našem pracovišti jsme „purging“ neměli možnost provádět, takže vlastní zkušenosti nemáme.

To a spol. (23, 24), ale i jiní (3) diskutují o myšlence, která nás zaujala. Našeho posledního pacienta připravujeme ke **kombinované transplantaci**. Ode-

brali jsme již pětkrát periferní kmenové buňky, které jsou konzervovány při teplotě tekutého dusíku. K tomu hodláme přidat menší odběr autologní kostní dřeně. Veškerý materiál se pak transplantuje nemocnému po předchozí intenzivní léčbě zářením a cytostatiky. Tento postup je výhodný v několika směrech. Výše jsme se zmínili o nedostatku prekursorů megakaryocytů v periferním poolu kmenových buněk. To odstraní nebo zmírní současné podání dřeně. Odběr dřeně nemusí být tak velký a nezatíží tolik nemocného, anebo je možný i při věku kolem 60 let, kdy již dostatek materiálu ze dřeně pro klasickou transplantaci získáváme jen obtížně. Periferní kmenové buňky zajistí rychlejší restauraci krvetvorby po transplantaci, než je tomu po podání dřeně.

Transplantace periferních kmenových buněk je další metodou, která může zlepšit osud nemocných těžkými chorobami, zejména hematologickými. Patří mezi moderní, i když dosud převážně experimentální metodiky komplexní péče o nemocné na vyspělých pracovištích. Počet transplantovaných i počet publikací v posledních letech stoupá a předznamenává dobrou budoucnost metody. I na našem pracovišti chceme s touto metodikou získat další zkušenosti.

Věnování

Autoři věnují tuto práci svému učiteli, hlavnímu internistovi ČSA, plk. prof. MUDr. Vladimíru Pidrmanovi, DrSc. k jeho životnímu jubileu. Zavedení metodiky, která není jednoduchá, aktivně podporoval, vytvořil nám podmínky k práci a umožnil ji, takže mohla být poprvé v ČSFR provedena.

Souhrn

Autologní transplantace kostní dřeně nabývá na významu. V posledních 10 letech bylo prokázáno, že účinný může být i převod autologních kmenových buněk získaných z periferní krve.

Autoři provedli 14 odběrů periferních kmenových buněk a z nich vyhodnocují v této práci 9. Pracovali se separátorem krevních tělísek Travenol CS-3000. Materiál byl uchováván v roztoku CPD nebo při teplotě -80°C . Převod byl proveden třem nemocným s maligními lymfomy, a to bez vedlejších příhod. Nemocní jsou dosud v úplné remisi. Autoři diskutují o výhodách a nevýhodách postupu a dalších možných směrech výzkumu.

Literatura

1. BARR, R. D.: Haemopoietic engraftment with peripheral blood cells in the treatment of malignant disease. *Brit. J. Haematol.*, 51, 1982, č. 2, s. 181–187.
2. BAAR, R. D. – PERRY, S.: Hemopoietic stem cells in human peripheral blood. *Science*, 190, 1975, č. 4211, s. 284–285.
3. BELL, A. J.: Circulating stem cell autografts in the treatment of hematologic malignancies. *Plasma Ther. Transfus. Technol.*, 9, 1988, s. 133–137.

4. BELL, A. J. et al.: Peripheral blood stem cell autografts in the treatment of lymphoid malignancies: initial experience in three patients. *Br. J. Haematol.*, 66, 1987, s. 63–68.
5. BELL, A. J. – HAMBLIN, T. J. – OSCIER, D. G.: Circulating stem cell autografts. *Bone Marrow Transpl.*, 1, 1986, s. 103–110.
6. BELL, A. J. et al.: Circulating stem cell autografts in the treatment of hematologic malignancies. *Plasma Ther. Transfus. Technol.*, 9, 1988, s. 133–137.
7. BURNETT, A. K.: Haematological reconstitution following high dose and supralethal chemo-radiotherapy using stored, noncryopreserved autologous bone marrow. *Br. J. Haematol.*, 54, 1983, s. 309–316.
8. BLÁHA, M. aj.: Podpůrná léčba útlumů krvetvorby. Praha, Naše vojsko 1986, 208 s.
9. FEDOTENKOV, A. G.: Preservation of bone marrow for clinical use. In: *Bone-Marrow Conservation, Culture and Transplantation, Proceeding of panel, Moscow, July 22–26, 1968*. International Atomic Energy Agency, Vienna, 1969, s. 163 až 171.
10. GORIN, N. C.: Collection, manipulation and freezing of haemopoietic stem cells. *Clin. Haematol.*, 15, 1986, č. 1, s. 19–48.
11. HÉNON, P. et al.: Collection of circulating stem cells and their use for autograft in adults with acute lymphoblastic leukaemia. *Nouv. Rev. Fr. Haematol.*, 30, 1988, č. 4, s. 229–235.
12. KESSINGER, A. et al.: Autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation restores hematopoietic function following marrow ablative therapy. *Blood*, 71, 1988, č. 3, s. 723 až 727.
13. KESSINGER, A. et al.: Reconstruction of human hematopoietic function with autologous cryopreserved circulating stem cells. *Exp. Hematol.*, 14, 1986, s. 192–196.
14. KISSMEYER-NIELSEN, F. K. – JERBYE, K. E.: Histocompatibility testing. Munksgaard, Copenhagen 1967. 281 s.
15. KOERBLING, M. et al.: Autologous transplantation of blood-derived hemopoietic stem cells after myeloablative therapy in a patient with Burkitt's lymphoma. *Blood*, 67, 1986, s. 529–532.
16. KOERBLING, M. – FLIEDNER, T. M. – PFLIEGER, H.: Collection of large quantities of granulocyte/macrophage progenitor cells (CFUc) in man by means of continuous-flow leukapheresis. *Scand. J. Haematol.*, 24, 1980, č. 1, s. 22–28.
17. KOERBLING, M. – MARTIN, H.: Transplantation of hemapheresis-derived hemopoietic stem cells: a new concept in the treatment of patients with malignant lymphopoietic disorders. *Plasma Ther. Transfus. Technol.*, 9, 1988, č. 1, s. 119–132.
18. LASKY, L. C. et al.: Collection of pluripotential hematopoietic stem cells by cytapheeresis. *Blood*, 59, 1982, č. 4, s. 822–827.
19. MĚŘIČKA, P.: Containers for freezing and storage of bone marrow stem cells. *Sbor. věd. prací LF UK (Hradec Králové)*, v tisku 1990.
20. REIFFERS, J. et al.: Successful autologous transplantation with peripheral blood hemopoietic cells in a patient with leukemia. *Exp. Hematol.*, 14, 1986, s. 312–315.
21. REIFFERS, J. et al.: Stem cell apheresis in patients with non-lymphocytic leukemia. *Plasma Ther. Transfus. Technol.*, 9, 1988, č. 1, s. 115–118.
22. ŠULC, K. – BLÁHA, M.: Účinek intravenosního podání hydrokortisonu na hladinu CFU-GM v krvi. *Čas. Lék. čes.*, 127, 1988, č. 51, s. 1587–1589.
23. TO, L. B. et al.: Peripheral blood stem cells collected in very early remission produce rapid and sustained autologous hematopoietic reconstitution in acute non-lymphoblastic leukaemia. *Bone Marrow Transplant.*, 2, 1987, s. 103–108.
24. TO, L. B. – JUTTNER, C. A.: Peripheral blood stem cell autografting: a new therapeutic option for AML? *Brit. J. Haematol.*, 66, 1987, s. 285–288.

Klíčová slova: Transplantace; Kmenové buňky; Separátor.