

Subpopulace CD34⁺ buněk a jejich význam pro přihojení štěpu u příbuzenských alogenních transplantací periferních kmenových buněk

M. Klabusay, V. Suková, Z. Kořístek, J. Mayer, J. Vorlíček

Interní hematotoonologická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

Souhrn: *Východiska:* Hodnocení kvality štěpu kostní dřeně a periferních kmenových buněk se standardně provádí stanovením koncentrace CD34⁺ buněk. Ačkoliv u autologních transplantací je souvislost mezi dávkou CD34⁺ buněk a rychlostí přihojení štěpu prokázána, u alogenních transplantací tomu tak vždy být nemusí. *Pacienti a metodika:* U pacientů indikovaných k alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk byla sledována korelace mezi dávkou subpopulací CD34⁺ buněk a rychlostí přihojení. Pacienti byli v analýze rozděleni podle typu přípravného režimu na skupinu s myeloablativním a s nemyeloablativním režimem. Data byla analyzována analýzou variance v regresních modelech a pomocí neparametrických testů. *Výsledky:* Ze sledovaných subpopulací měla největší vliv na přihojení subpopulace CD34⁺36⁺ buněk, které byly také nejvýznamnějším prediktorem rychlosti přihojení u pacientů s myeloablativním režimem. U pacientů s nemyeloablativním režimem nicméně zůstala nejlepším prediktorem přihojení dávka CD34⁺ buněk. Signifikanční vliv na rychlost přihojení v obou skupinách měly rovněž subpopulace CD34⁺38⁺ a CD34⁺61⁺. *Závěr:* U pacientů s odlišnými předtransplantačními režimy se v přihojení pravděpodobně různým mechanismem uplatňují hematopoetické kmenové buňky a progenitorové buňky definované koexpresí specifických antigenů. Zatímco dávka CD34⁺ buněk stále nejlépe koreluje s rychlostí přihojení u pacientů transplantovaných po nemyeloablativním režimu, po myeloablativním režimech se dávka CD34⁺36⁺ buněk jeví jako lepší prediktor rychlosti přihojení.

Klíčová slova: hematopoetické kmenové buňky – imunofenotypizace – subpopulace CD34⁺ buněk – alogenní transplantace krvetvorných buněk

The subpopulation of CD34⁺ cells and their importance in the healing of grafts in family-related allogenic transplants of peripheral stem cells.

Summary: *Current status:* The determination of concentration of CD34⁺ cells is the standard method for evaluation of the quality of a bone marrow graft and of peripheral stem cells. Although the relationship between the dose of CD34⁺ cells and the speed of graft healing in autologous transplants is a proven fact, it may not always be the case in allogenic transplants. *Patients and method:* The correlation between the dose of CD34⁺ cell subpopulations and the speed of healing was monitored in patients indicated for allogenic transplantation of haematopoietic stem cells. The patients were divided according to the type of preparatory regimen they underwent for the purpose of analysis; one group contained those under a myeloablative regimen; a second group contained those under a non-myeloablative regimen. The data was subject to analysis of variance in regression models and non-parametric tests. *Results:* From among the monitored subpopulations, CD34⁺36⁺ cells had the greatest effect on the healing process and were the most significant predictor of the speed of healing in patients under a myeloablative regimen. Nevertheless, a dose of CD34⁺ cells continued to be the best healing predictor in patients under a non-myeloablative regimen. Also subpopulations of CD34⁺38⁺ and CD34⁺61⁺ cells had a significant effect on the speed of healing in both groups. *Conclusion:* Haematopoietic stem cells and progenitor cells defined by co-expression of specific antigens are likely to play a role, through different mechanisms of action, in the process of healing in patients in different pre-transplant regimens. While the dose of CD34⁺ cells is still the one which correlates best with the speed of healing in patients who underwent transplantation after non-myeloablative regimen, the dose of CD34⁺36⁺ cells appears to be a better predictor for the speed of healing after myeloablative regimens.

Key words: haematopoietic stem cells – immunofenotypisation – subpopulation of CD34⁺ cells – allogenic transplantation of blood forming cells

Úvod

Transplantace kostní dřeně nebo periferních kmenových buněk krvetvorby (peripheral blood stem cells – PBSC) jsou často jedinou možnou poten-

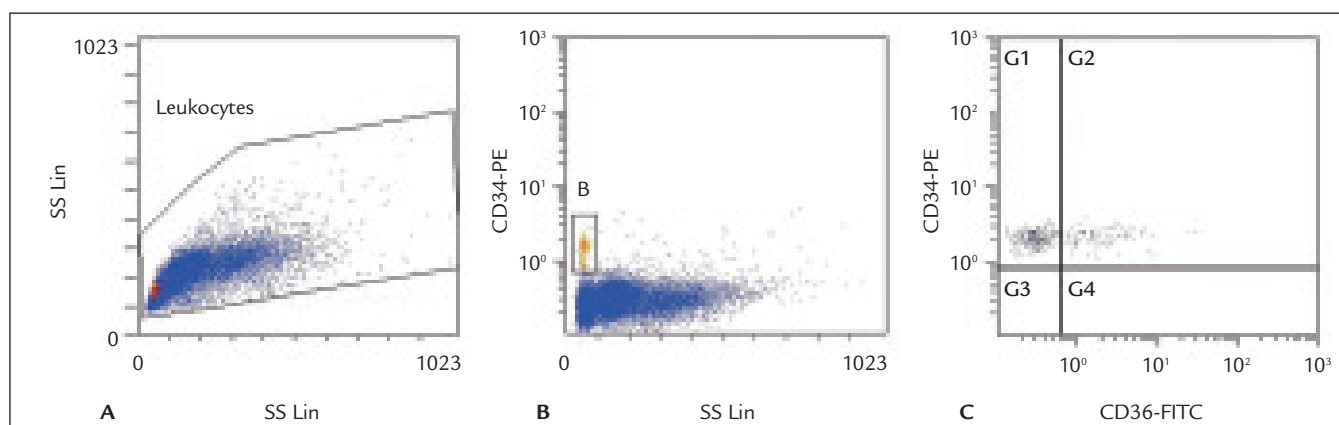
ciálně kurativní alternativou pro pacienty s nádory typu leukemií či lymfomů. Alogenní transplantace jsou již léčbou první volby zejména u diagnóz akutních leukemií, chronické myeloidní

leukemie či relabujících lymfomů [1]. V posledních letech rovněž nemyeloablativní přístup otevřel cestu k této léčbě pacientům vyšších věkových skupin zatížených komorbiditami.

Tab. 1. Přehled diagnóz pacientů.

	AML	ALL	CML	CLL	AA	MM	NHL	HD	tumor	MDS
počet pacientů	10	2	15	1	1	2	3	1	3	3

AML – akutní myeloidní leukemie, ALL – akutní lymfoblastická leukemie, CML – chronická myeloidní leukemie, CLL – B-chronická lymfatická leukemie, AA – aplastická anémie, MM – mnohočetný myelom, NHL – non-hodgkinský lymfom, HD – Hodgkinův lymfom, tumor – jiný solidní nádor, MDS – myelodysplastický syndrom



Obr. 1. Histogramy z flow cytometrické analýzy transplantátu periferních kmenových buněk (PBSC). A: Leukocyty – gating na histogramu forward-scatter (FS) vs. side-scatter (SS). B: CD34⁺ buňky (gate B) identifikované na histogramu CD34 PE vs. side-scatter (SS). C: Exprese antigenu CD36 na CD34⁺ buňkách – histogram CD34 PE vs. CD36 FITC (subpopulace CD34⁺36⁺ buněk se nachází v kvadrantu G2).

Periferní kmenové buňky krvetvorby se v posledních letech stále více uplatňují jako zdroj hematopoetických kmenových buněk jak u autologních [2–5], tak i u alogenních transplantací [4,6,7]. Výhodou transplantace PBSC je časnější přijetí [8–10] a odběr štěpu bez nutnosti celkové anestezie [11].

Pro úspěšnost transplantace PBSC i kostní dřeně je rozhodující dávka CD34⁺ buněk. CD34⁺ buňky však představují nestejnorodou skupinu, z níž pouze velmi malé procento tvoří pluripotentní hematopoetické kmenové buňky, které ještě neexprimují antigeny specifické pro jednotlivé hematopoetické linie a tvoří CFU-GM (colony forming unit – granulocyte macrophages). Z pluripotentních hematopoetických buněk se formují v dalším vývoji progenitorové buňky, které již exprimují vedle antigenu CD34 i další antigeny charakteristické pro danou vývojovou řadu [12]. Nicméně korelace mezi dávkou transplantovaných CD34⁺ buněk a rychlostí přijetí

není jednoznačná. Některé práce naopak popisují větší vliv určitých subpopulací CD34⁺ buněk než samotných CD34⁺ buněk, jak u alogenních [13], tak i u autologních transplantací [2,3,5].

V této práci jsme analyzovali význam dávky CD34⁺ buněk a jejich subpopulací pro rychlost přijetí po transplantaci alogenních PBSC. Vzhledem k tomu, že v námi hodnoceném souboru byli pacienti s odlišnými předtransplantačními režimy, které mohou ovlivnit průběh přijetí, rozdělili jsme pacienty do skupiny s myeloablativním a s nemyeloablativním přípravným režimem.

Metodika

Dárci

Dárcům PBSC byl po podpisu informovaného souhlasu podáván filgrastim (Neupogen; rekombinantní lidský granulocyte-colony stimulating factor; r-metHuG-CSF) v subkutánní injekci v celkové denní dávce 16 µg/kg/den.

Separace PBSC byla zahájena vždy 4. den aplikace filgrastimu, pokračovala 5. den a výjimečně i den 6.

Pacienti

Nemocní s diagnózami akutní leukemie lymfoblastické i myeloidní, chronické myeloidní i lymfatické leukemie, nonhodgkinského lymfomu, aplastické anémie a myelomu byli indikováni transplantační komisí Interní hemat-onkologické kliniky k příbuzenské transplantaci, byl-li nalezen vhodný příbuzný HLA identický dárce. Přípravné režimy v souboru pacientů zahrnovaly myeloablativní schémata [busulfan/cyklofosfamid a cyklofosfamid/TBI (total body irradiation – celotělové ozáření)] a nemyeloablativní schéma (režim fludarabin/busulfan/anti-T-lymfocytární globulin). Celkem bylo vyhodnoceno 41 pacientů, u nichž byla provedena příbuzenská alogenní transplantace PBSC. Věkový medián příjemců byl 46 let (rozmezí 20–65 let). Přehled diagnóz sledovaných pacientů je uveden v tab. 1.

Odběr PBSC a flow cytometrická analýza

Odběr byl prováděn pomocí separátoru COBE Spectra (COBE BCT, Inc., Lakewood, Colorado, USA) zpravidla cestou v. femoralis. Vzorky všech transplantátů byly analyzovány ve trojbarvném režimu na flow cytometru Epics XL (Beckman-Coulter, CA, USA) vybaveném argonovým laserem. Byly použity monoklonální protilátky CD33, CD38, CD45, CD61, CD117 a HLA-DR (Caltag Laboratories, Inc., CA, USA); CD7, CD19, CD36, CD90 (Beckman-Coulter, Immunotech); CD34 (Becton-Dickinson, NJ, USA). Protilátky byly přímo konjugovány s fluorochromy FITC (fluorescein-isothiocyanate), R-PE (R-phycoerythrin), PE-Cy5 (R-phycoerythrin-Cy5).

Populace CD34⁺ buněk byla identifikována na základě protilátky anti-CD34-PE a parametrů side-scatter (SS). Byly analyzovány následující subpopulace CD34⁺ buněk: CD7, CD19, CD33, CD36, CD38, CD61, CD90, CD117 a HLA-DR (obr. 1).

Analýza krevního obrazu a kvality štěpu

Analýza krevního obrazu byla prováděna na analyzátoru Cell Dyne 3500 (Abbott Laboratories, IL, USA). Procentuální zastoupení CD34⁺ buněk bylo hodnoceno pomocí flow cytometrie. Hodnoty CD34⁺ buněk byly přepočítány na kilogram hmotnosti příjemce. Kultivace CFU-GM byla prováděna standardní metodou v systému kompletního metylcelulózového média MethoCult HCC-4434 (StemCell Technologies Inc., Vancouver, Kanada). Kolonie byly odečítány po 14–16 dnech inkubace při 37 °C ve zvlhčené 5% atmosféře CO₂.

Sledování posttransplantačního průběhu

V periferní krvi byl denně stanoven krevní obraz včetně diferenciálního rozpočtu. Den přijetí byl pro jednotlivé populace buněk stanoven následovně: pro leukocyty den vzestupu

Tab. 2. Složení transplantátů – absolutní množství jednotlivých CD34⁺ subpopulací. Dávka buněk ($\times 10^6$ /kg příjemce).

	medián	minimum–maximum
CD34 ⁺ 7 ⁺	1,05	0,16–6,68
CD34 ⁺ 19 ⁺	0,17	0,03–0,92
CD34 ⁺ 33 ⁺	3,11	0,37–13,42
CD34 ⁺ 36 ⁺	2,34	0,28–6,13
CD34 ⁺ 38 ⁺	3,41	0,25–12,84
CD34 ⁺ 61 ⁺	1,99	0,23–8,13
CD34 ⁺ 90 ⁺	0,56	0,08–4,39
CD34 ⁺ 117 ⁺	3,25	0,15–11,5
CD34 ⁺ HLA DR ⁺	4,95	0,24–13,83

koncentrace nad 1×10^9 /l, pro granulocyty den vzestupu koncentrace nad $0,5 \times 10^9$ /l a pro trombocyty den vzestupu koncentrace nad 50×10^9 /l. Dále byly prováděny rutinní biochemické a mikrobiologické analýzy, sledován klinický stav, nutnost substituce krevními deriváty a hodnoceny komplikace související toxicitou přípravného režimu a s reakcí štěpu proti hostiteli (GvHD).

Statistická analýza

Data byla statisticky vyhodnocena v softwaru NCSS verze 6.0 (Dr. J. L. Hintze, UT, USA). Pracovali jsme s dávkou buněk subpopulací CD34⁺ přepočtenými na kilogram hmotnosti příjemce. Pro každou subpopulaci CD34⁺ buněk byla data analyzována pomocí neparametrických testů (Spearman) a dále analýzou variance v regresních modelech kombinujících příspěvek jednotlivých populací pro přijetí.

Výsledky

Buněčné složení transplantátu

Množství CD34⁺ buněk v transplantátu se pohybovalo v rozmezí 0,6–4,9 %, s mediánem 1,8 % ze všech leukocytů štěpu. U všech sledovaných subpopulací CD34⁺ buněk (s výjimkou CD34⁺19⁺ buněk) byla zaznamenána poměrně vysoká variabilita v jejich relativní koncentraci. Nejvíce byly ze subpopulací CD34⁺ buněk zastoupeny CD34⁺38⁺ a CD34⁺HLA-DR⁺ buňky (medián 57,8 % a 57,7 % z CD34⁺ buněk).

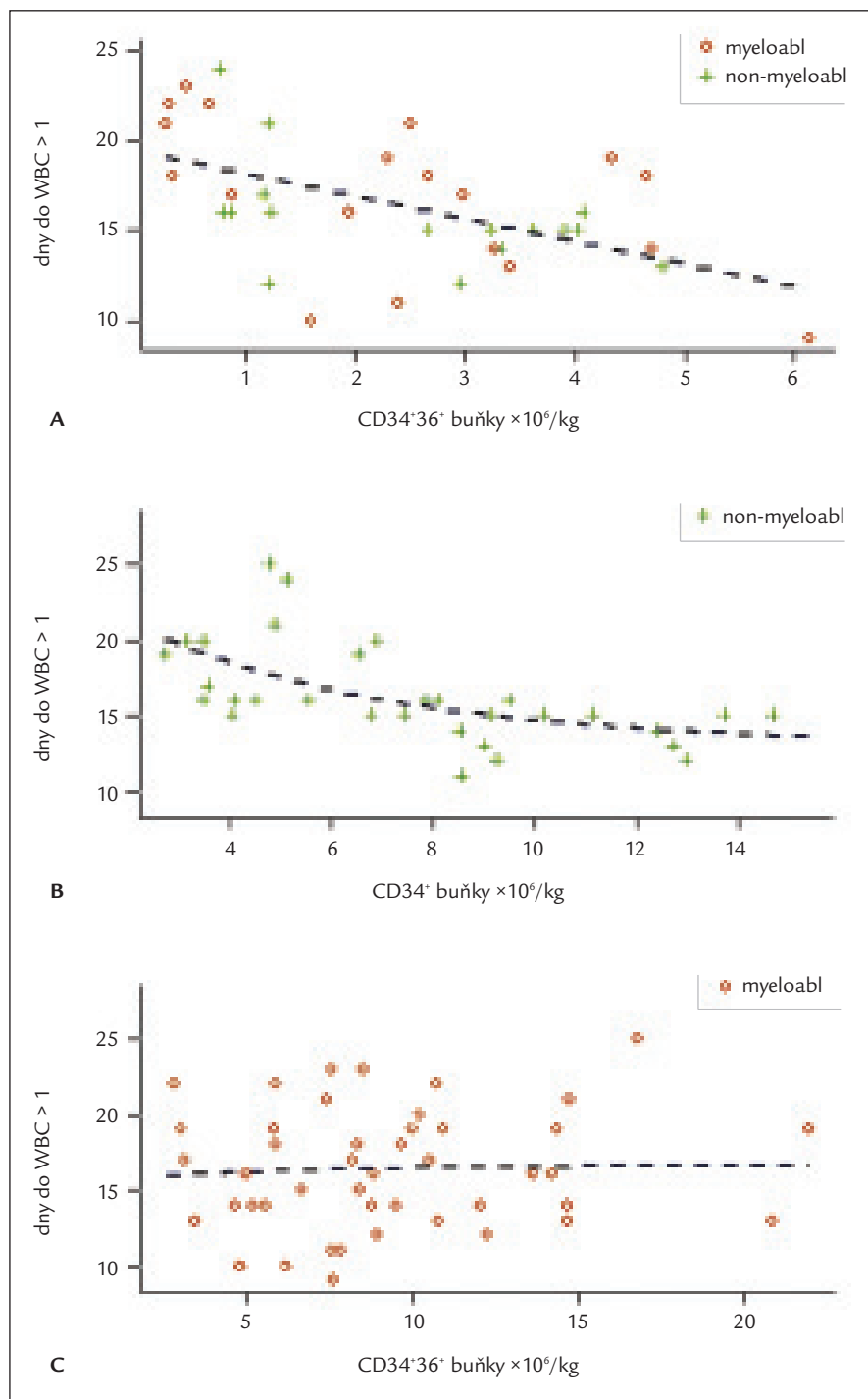
Pacientům bylo transplantováno minimálně $2,65 \times 10^6$ CD34⁺ buněk/kg, medián $7,85 \times 10^6$ /kg. Ze subpopulací CD34⁺ buněk obsahoval transplantát nejvíce CD34⁺HLA-DR⁺ buněk (medián $4,95 \times 10^6$ /kg). Nejméně byly ze subpopulací zastoupeny v transplantátu CD34⁺19⁺ buňky (medián $0,17 \times 10^6$ /kg). Výsledky složení transplantátu všech hodnocených populací jsou shrnuty v tab. 2.

Korelace mezi buněčným složením transplantátu a rychlostí engraftmentu

Při současném hodnocení obou skupin pacientů bylo dosaženo přijetí v linii trombocytární s mediánem 13 dní. Nejkratší doba do přijetí leukocytů byla 9 dní, s mediánem 16 dní. Přijetí granulocytů bylo dosaženo s mediánem 15 dnů od transplantace.

Při analýze celé skupiny pacientů nerozdělené podle typu přípravného režimu významně korelovala dávka transplantovaných CD34⁺ buněk pouze s rychlostí přijetí granulocytů ($p < 0,05$). Ze subpopulací byl zjištěn nejvýznamnější vliv CD34⁺36⁺ buněk. Jejich množství v transplantátu korelovalo s přijetím leukocytů ($p < 0,001$), granulocytů ($p < 0,01$) i trombocytů ($p < 0,05$). Významná korelace byla také prokázána mezi dávkou CD34⁺38⁺ a CD34⁺61⁺ buněk a přijetím leukocytů a granulocytů (vše $p < 0,05$).

Rozdíly se však ukázaly po rozdělení pacientů do skupin léčených myelo-



Obr. 2. Příhojení štěpu v linii leukocytů. Každý bod identifikuje jednoho pacienta. Osa x – dávka transplantovaných buněk na kg hmotnosti příjemce, osa y – dny do příhojení v leukocytech ode dne transplantace. Přerušovaná křivka představuje regresní model příhojení příslušné populace buněk. A: Závislost rychlosti příhojení leukocytů na dávce transplantovaných CD34⁺36⁺ buněk pro obě skupiny pacientů ($p < 0,001$). B: Vliv dávky transplantovaných CD34⁺ buněk na příhojení leukocytů u nemyeloablativní skupiny. Korelace mezi množstvím CD34⁺ buněk v transplantátu a rychlostí příhojení leukocytů je signifikantní ($p < 0,001$). C: Vliv dávky transplantovaných CD34⁺ buněk na příhojení leukocytů u myeloablativní skupiny. Dávka CD34⁺ buněk neměla signifikantní vliv na rychlost příhojení leukocytů.

WBC – white blood cells (leukocyty); myeloabl. (o) – skupina s myeloablativním režimem, non-myeloabl (+) – nemyeloablativní skupina

ablativním a nemyeloablativním režimem. Zatímco ve skupině pacientů s nemyeloablativním režimem dávka transplantovaných CD34⁺ buněk korelovala s příhojením leukocytů, granulocytů i trombocytů ($p < 0,001$), u skupiny s myeloablativním režimem nebyla prokázána pro CD34⁺ buňky korelace žádná (obr. 2). Nejvýznamnějším parametrem pro příhojení u skupiny s myeloablativním režimem byla dávka transplantovaných CD34⁺36⁺ buněk korelující s rychlostí příhojení leukocytů ($p < 0,01$). Věk pacientů ani dárců neměl významný vliv na sledované parametry.

Diskuse

V současné době jsou standardně hodnocenými parametry určujícími kvalitu transplantátu množství CD34⁺ buněk a CFU-GM [14] ve štěpu. Nicméně byly publikovány práce poukazující na subpopulaci CD34⁺CD38⁻ buněk jako lepší prediktor úspěšnosti příhojení v linii leukocytů i trombocytů [3,5,15] a rovněž byla prokázána korelace také s dalšími subpopulacemi CD34⁺CD33⁻ [2] a CD34⁺CD41⁺ [13].

V naší práci jsme analyzovali vliv 9 vybraných subpopulací CD34⁺ buněk na příhojení štěpu u pacientů po alogenní transplantaci. Pokud odhlédneme od typu přípravného režimu, výsledky zahraničních prací jsou nejednotné. Zatímco některé studie popisují vliv dávky CD34⁺ buněk na rychlost příhojení do linie neutrofilů i trombocytů [7,16,17], jinými autory tato korelace prokázána nebyla [18,19]. Lickliter et al [8] vyhodnotili ve své práci výsledky transplantace alogenních PBSC u 42 pacientů a korelaci mezi dávkou CD34⁺ a příhojením neutrofilů neprokázali, naopak ale korelovalo množství transplantovaných CD34⁺ buněk s rychlejším příhojením trombocytů. Podobně se liší i výsledky u autologních transplantací [15,20,21]. Tyto rozdíly ve vlivu CD34⁺ buněk na příhojení mohou být způsobeny rozdíly v souborech nemocných zahrnující

pacienty s různými diagnózami a tedy i rozdílnou léčbou.

Ze sledovaných subpopulací jsme zjistili statisticky významný vliv na přijížení u 3 z nich. Vliv CD34⁺38⁺ buněk, které v naší práci korelovaly s přijížením leukocytů a granulocytů, byl prokázán také na linii trombocytů [3]. Jiné studie naopak popisují korelaci dávkou méně diferencovaných CD34⁺38⁺ buněk s rychlostí přijížení neutrofilů [3], leukocytů [5,15] a trombocytů [2,15] u autologních transplantací. Signifikantní byla korelace mezi dávkou transplantovaných CD34⁺61⁺ buněk a přijížením leukocytů a granulocytů, překvapivě však nikoliv trombocytů. Korelace s rychlostí přijížení trombocytů je popsána v práci Bojko et al [22], ale u méně diferencované populace CD34⁺HLA-DR-61⁺. Nejvýznamnější efekt na přijížení ve všech třech sledovaných liniích byl prokázán u CD34⁺36⁺ subpopulace. Antigen CD36 patří mezi adhezivní molekuly a během hematopoézy je exprimován na povrchu erytrocytárních progenitorů [12]. Vliv CD34⁺36⁺ buněk na přijížení dosud nebyl žádnou skupinou analyzován.

Ve skupině pacientů s nemyeloablativním režimem dávka transplantovaných CD34⁺ buněk významně korelovala s přijížením leukocytů, granulocytů i trombocytů. Subpopulace CD34⁺36⁺ buněk měla signifikantní efekt na přijížení granulocytů, podobně jako transplantované CD34⁺61⁺ buňky.

U pacientů, kteří byli léčeni myeloablativním režimem, již nebyla shledána korelace mezi dávkou transplantovaných CD34⁺ buněk a přijížením do žádné ze sledovaných linií. Subpopulace CD34⁺36⁺ buněk ale jednoznačně korelovala s přijížením leukocytů, granulocytů i trombocytů.

Závěr

Výsledky této práce poukazují na rozdíly v působení CD34⁺ subpopulací na přijížení v závislosti na předchozí léčbě pacienta. Z našich výsledků je pa-

trné, že vyšší transplantované množství CD34⁺ buněk vedlo k signifikantnímu urychlení přijížení pouze u pacientů s nemyeloablativním režimem. U myeloablativní skupiny již nebyl zjištěn signifikantní vliv samotných CD34⁺ buněk, nýbrž větší roli zde hrála dávka subpopulace CD34⁺36⁺ buněk. Není ovšem vyloučen výrazný vliv i jiných subpopulací, především exprimujících adhezivní molekuly, které ovlivňují homing hematopoetických kmenových buněk v kostní dřeni. Naše výsledky hodnotily rychlost přijížení, která je důležitá pro snížení výskytu časných posttransplantačních komplikací a peritransplantační mortality. Pro stabilitu dlouhodobého přijížení může hrát důležitější roli naopak dávka transplantovaných buněk, které představují méně diferencované subpopulace CD34⁺ kompartmentu.

Poděkování

Tato práce byla plně podpořena grantem IGA MZ ČR č. NR/8003-3/2004.

Literatura

1. Cutler C, Antin JH. Peripheral blood stem cells for allogeneic transplantation: a review. *Stem cells* 2001; 19: 108–117.
2. Buscemi F, Indovina A, Scimè R et al. CD34⁺ cell subsets and platelet recovery after PBSC autograft. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16: 855–860.
3. Gonzalez-Requejo A, Madero L, Díaz MA et al. Progenitor cell subsets and engraftment kinetics in children undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Br J Haematol* 1998; 101: 104–110.
4. Gratwohl A, Baldomero H, Horisberger B et al. Current trends in hematopoietic stem cell transplantation in Europe. *Blood* 2002; 100: 2374–2386.
5. Bojko P, Scharifi M, Stössel K et al. Comparison of processing four and five times the patients' blood volume during peripheral blood stem cell collection and analysis of CD34⁺38⁺ and 34⁺49d⁺ subsets during apheresis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 19–28.
6. Harada M, Shinagawa K, Kawano T et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for standard-risk leukemia. A multicenter pilot study: Japanese

experience. *Japan Blood Cell Transplantation Study Group. Bone Marrow Transplant* 1998; 21(Suppl 3): 54–56.

7. Zaucha JM, Gooley T, Bensinger WI et al. CD34 cell dose in granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cell grafts affects engraftment kinetics and development of extensive chronic graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplantation. *Blood* 2001; 98: 3221–3227.

8. Lickliter JD, McGlave PB, DeFor TE et al. Matched-pair analysis of peripheral blood stem cells compared to marrow for allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 723–728.

9. Ringdén O, Remberger M, Runde V et al. Faster engraftment of neutrophils and platelets with peripheral blood stem cells from unrelated donors: a comparison with marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25(Suppl 2): 6–8.

10. Bacigalupo A, Frassonni F, Van Lint MT. Bone marrow or peripheral blood as a source of stem cells for allogeneic transplants. *Curr Opin Hematol* 2000; 7: 343–347.

11. Russell N, Gratwohl A, Schmitz N. The place of blood stem cells in allogeneic transplantations. *Br J Haematol* 1996; 93: 747–753.

12. Koubek K. Výskyt CD znaků na hematopoetických buňkách. *Vnitř Lék* 1998; 44: 609–623.

13. Begemann PGC, Hassan HT, Kröger N et al. Correlation of time to platelet engraftment with amount of transplanted CD34⁺CD41⁺ cells after allogeneic bone marrow transplantation. *J Hematother Stem Cell Res* 2002; 11: 321–326.

14. Reiffers J, Faberes C, Boiron JM et al. Peripheral blood progenitor cell transplantation in 118 patients with hematological malignancies: analysis of factors affecting the rate of engraftment. *J Hematother* 1994; 3: 185–191.

15. Hénon P, Sovalat H, Becker M et al. Primordial role of CD34⁺38⁺ cells in early and late trilineage haemopoietic engraftment after autologous blood cell transplantation. *Br J Haematol* 1998; 103: 568–581.

16. Brown RA, Adkins D, Goodnough LT et al. Factors that influence the collection and engraftment of allogeneic peripheral blood stem cells in patients with hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 1997; 15: 3067–3074.

17. Kato S, Yabe H, Yasui M et al. Allogeneic hematopoietic transplantation of

CD34⁺ selected cells from an HLA haplo-identical related donor. A long-term follow-up of 135 patients and a comparison of stem cell source between the bone marrow and the peripheral blood. Bone Marrow Transplant 2000; 26: 1281–1290.

18. Benito AI, Gonzalez-Vicent M, Garcia F et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) from HLA-identical sibling donors in children with hematological diseases: a single center pilot study. Bone Marrow Transplant 2001; 28: 537–543.

19. Anderson D, DeFor T, Burns L et al. A comparison of related donor peripheral blood and bone marrow transplants:

Importance of late-onset chronic graft-versus-host disease and infections. Biol Blood Marrow Transplant 2003; 9: 52–59.

20. Mayer J, Kořístek Z, Pospíšil Z et al. Kinetika obnovy krvetvorby po vysokodávkované chemoterapii a autologní transplantaci periferních kmenových buněk. Čas Lék Čes 1999; 138: 170–177.

21. Lanza F, Campioni D, Moretti S et al. CD34⁺ cell subsets and long-term culture colony-forming cells evaluated on both autologous and normal bone marrow stroma predict long-term hematopoietic engraftment in patients undergoing autologous peripheral blood stem cell trans-

plantation. Exp Hematol 2001; 29: 1484–1493.

22. Bojko P, Hester JP, Durett AG et al. Identification of megakaryocyte precursors in peripheral blood stem cell collection from normal donors. J Clin Apheresis 1998; 13: 7–15.

MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.

www.fnbrno.cz

e-mail: mklabus@fnbrno.cz

Doručeno do redakce: 9. 1. 2007

Přijato po recenzi: 22. 1. 2007

www.kardiologickarevue.cz