



Maximum Wellness

**Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
(G-CSF, Г-КСФ): молекулярная биология, биотехнология,
производство лекарственных форм, клинические
испытания и клиническая практика**

Dr. Ken Alibek

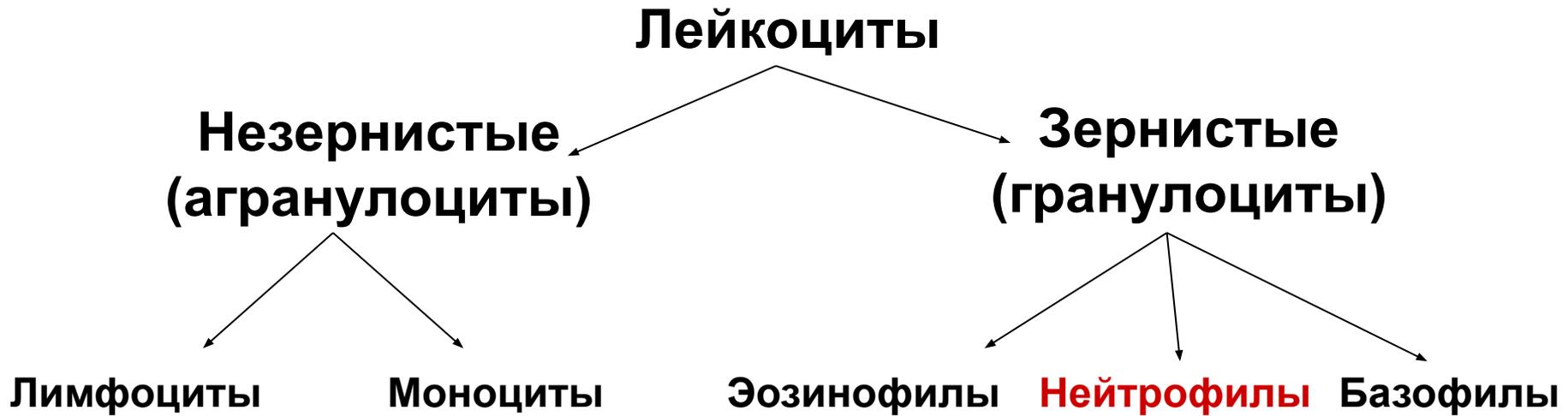
Согласно современным представлениям эндокринная система наряду с нервной и иммунной обеспечивает функционирование в организме человека единой

НЕЙРО-ИММУНО-ГУМОРАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ.

Главной функцией **иммунной системы** является выявление и обезвреживание «чужого». При этом иммунная система обеспечивает связывание и разрушение как инфекционных, так и неинфекционных антигенов.

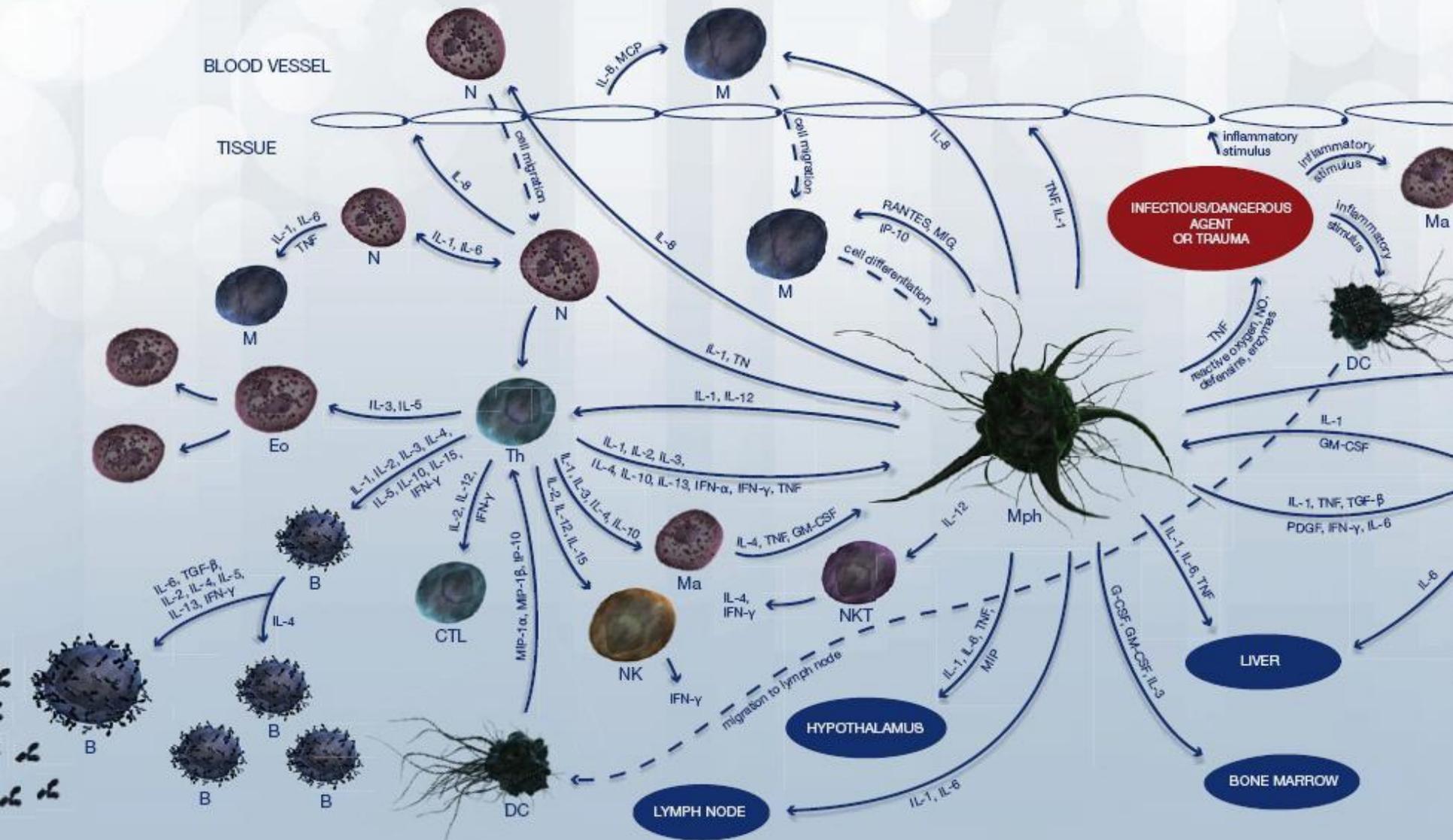
Иммунитет и защита организма

Нейтрофилы — один из элементов, реализующих защитную функцию иммунитета (1-я линия защиты).

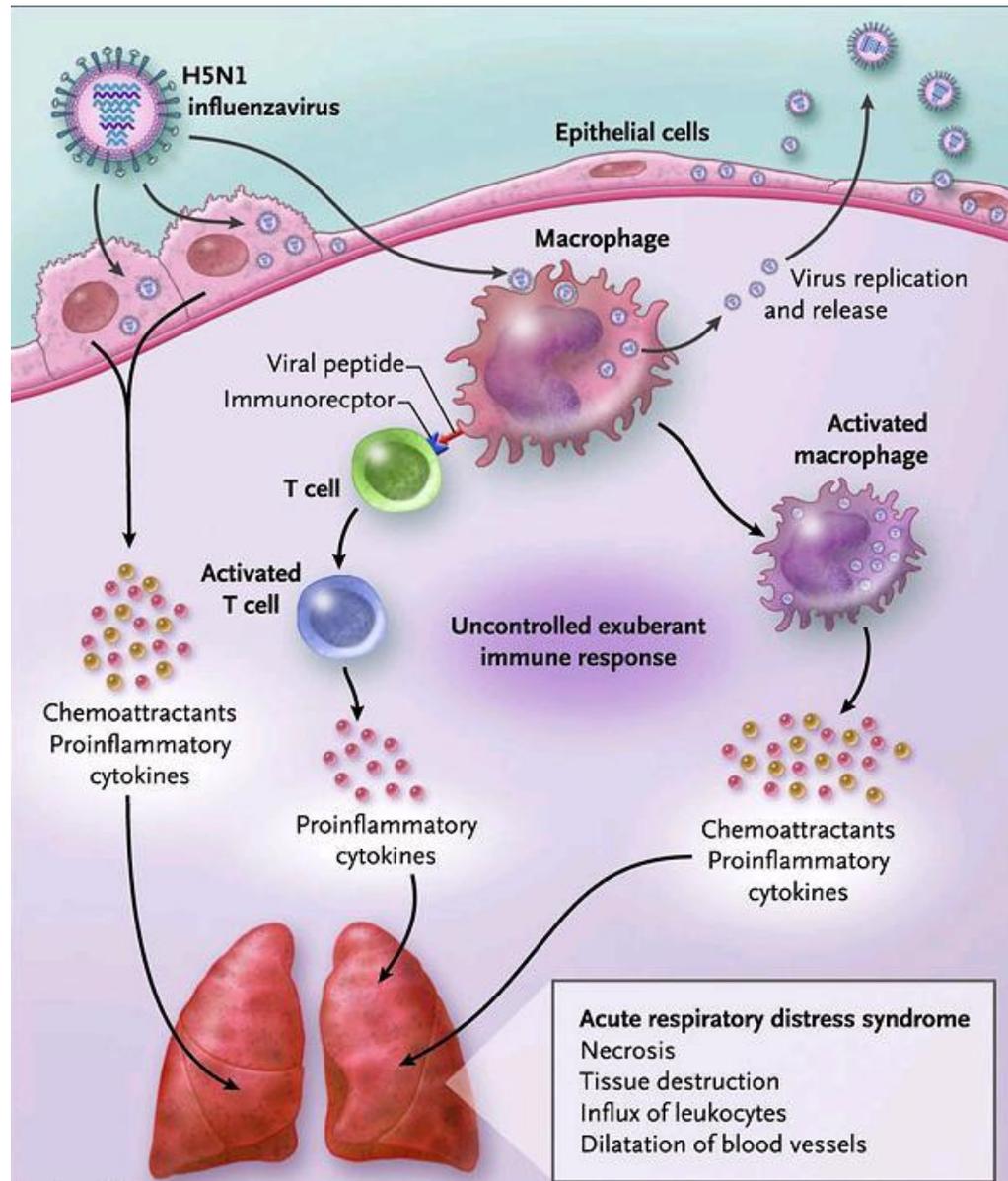


✓ **Нейтрофилы** составляют 50% всех лейкоцитов и 94% всех гранулоцитов.

Цитокиновая сеть воспалительного ответа (норма)



Патологическое действие цитокинов



Основные функции нейтрофилов

Нейтрофилы в большом количестве первыми «прибывают» на «место инфекции».

Длительность жизни **нейтрофилов** составляет несколько недель, поэтому они продуцируются костным мозгом постоянно и в больших количествах.

Ежедневно в организме человека образуется около 120 млрд гранулоцитов (94% из них составляют **нейтрофилы**). В стрессовой ситуации (например, в случае инфекционного заболевания) выработка гранулоцитов возрастает в 10 раз.

Такие агрессивные виды лечения, как химио- и радиотерапия, серьезно повреждают эти быстроразмножающиеся клетки; развивается **нейтропения** — понижение уровня **нейтрофилов**.

Пациенты с **нейтропенией** чрезвычайно подвержены риску развития инфекций.

G-CSF: определение

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Granulocyte Colony-Stimulating Factor, **G-CSF) — ключевой регулятор выработки нейтрофилов.**

G-CSF широко применяется в медицине для лечения нейтропений различной этиологии.



Maximum Wellness

Колониестимулирующие факторы (CSFs): с чего все начиналось...

1967 г.

Получено первоначальное представление о наличии факторов, от которых зависит рост и дифференциация белых кровяных телец.

- *Metcalf D, Foster R. Bone marrow colony-stimulating activity of serum from mice with viral-induced leukemia. J Natl Cancer Inst. 1967 Dec;39(6):1235-45.*
- *Metcalf D, Foster R, Pollard M. Colony stimulating activity of serum from germfree normal and leukemic mice. J Cell Physiol. 1967 Aug;70(1):131-2.*

1980 г.

Выделено активное вещество, получившее название «гранулоцитно-макрофагальный фактор дифференциации» (GM-DF).

- *Burgess AW, Metcalf D. Characterization of a serum factor stimulating the differentiation of myelomonocytic leukemic cells. Int J Cancer. 1980 Nov 15;26(5):647-54.*
- *Metcalf D. Clonal extinction of myelomonocytic leukemic cells by serum from mice injected with endotoxin. Int J Cancer. 1980 Feb 15;25(2):225-33.*

1983 г. Введен термин «G-CSF»

Гранулоцитно-макрофагальный фактор дифференциации окончательно разделен на GM-CSF и G-CSF.

- *Nicola NA, Metcalf D, Matsumoto M, Johnson GR. Purification of a factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells. Identification as granulocyte colony-stimulating factor. J Biol Chem. 1983 Jul 25;258(14):9017-23.*

1985 г.

Первые очистки G-CSF до гомогенности. G-CSF впервые получили из плаценты и опухолевых клеточных линий, продуцирующих этот фактор конститутивно.

- *Nicola N.A., Begley C.G., Melcalf D. Identification of the human analogue of a regulator that induces differentiation in murine leukaemic cells. // Nature. 1985, V. 314. P. 625.*
- *Welte K., Platzer E., Lu L., Gabrilove J., Levi E., Mertelsmann R., Moore AS. Purification and biochemical characterization of human pluripotent hematopoietic colony-stimulating factor // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 1985. V. 82. P. 1526.*

1986-1987 гг. Начало эры рекомбинантного G-CSF

Несколько групп ученых независимо друг от друга клонировали ген человеческого G-CSF.

- *Nagata S, Tsuchiya M, Asano S, Kaziro Y, Yamazaki T, Yamamoto O, Hirata Y, Kubota N, Oheda M, Nomura H, et al. Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony-stimulating factor. Nature 1986;319:415-8.*
- *Souza L.M., Boone T.C., Gabrilme J., Lai P.H., Zsebo K.M., Murdock D.C., Chazin V.R., Bruszewski J., Lu H. et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: effects on normal and leukemic myeloid cells // Science. 1986. V. 232. P. 61.*

G-CSF продуцируется многими клетками:

стромальными клетками костного мозга;

эндотелиальными клетками;

макрофагами;

гранулоцитами;

фибробластами;

астроцитами.

G-CSF действует только на те клетки, в которых экспрессируется соответствующий рецептор

Клетки-«мишени»

**Гемopoэтические
(крововетворные) клетки**

**Клетки нейтрофильного
ряда**

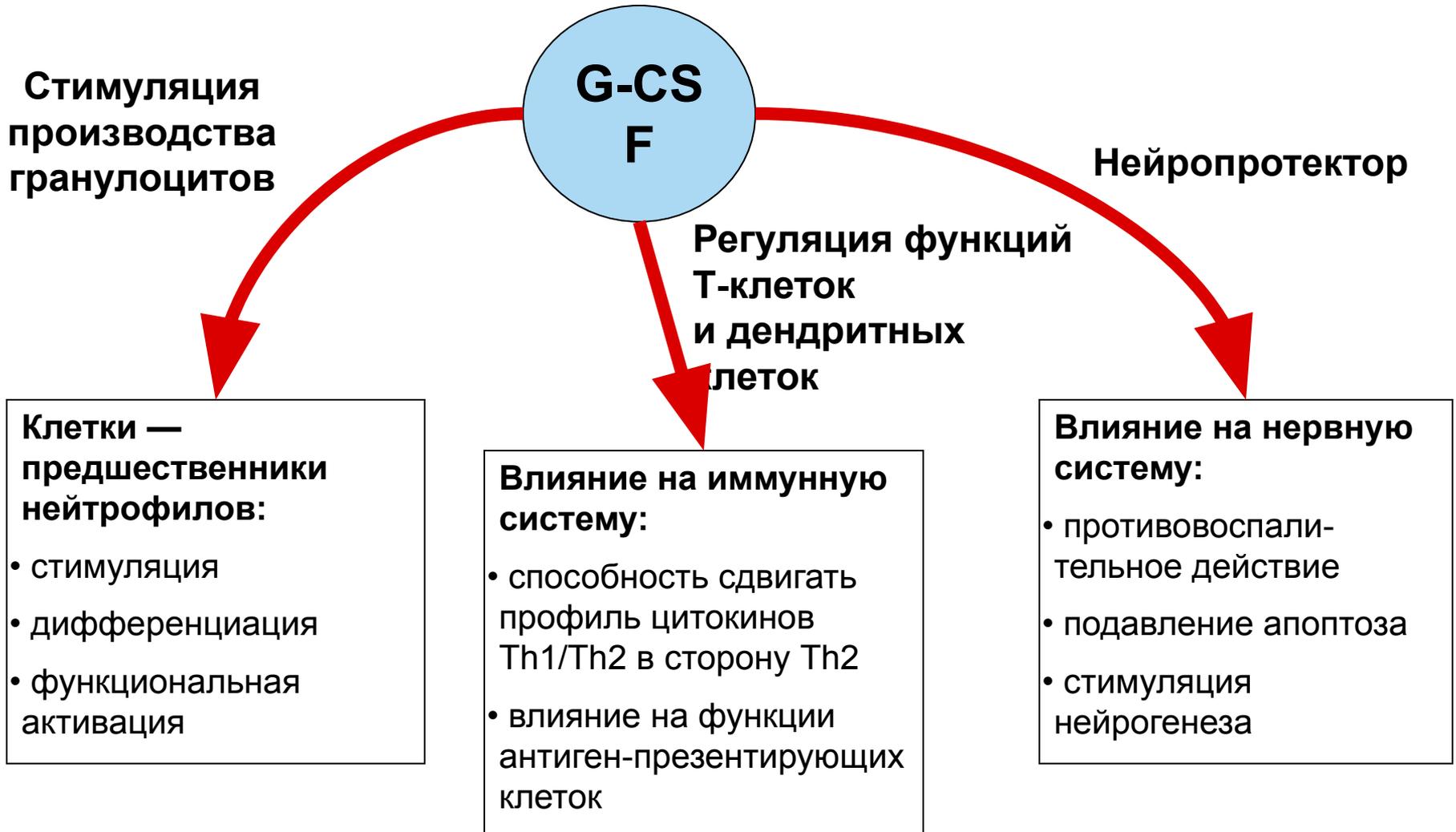
**Негемopoэтические
клетки**

Нейроны

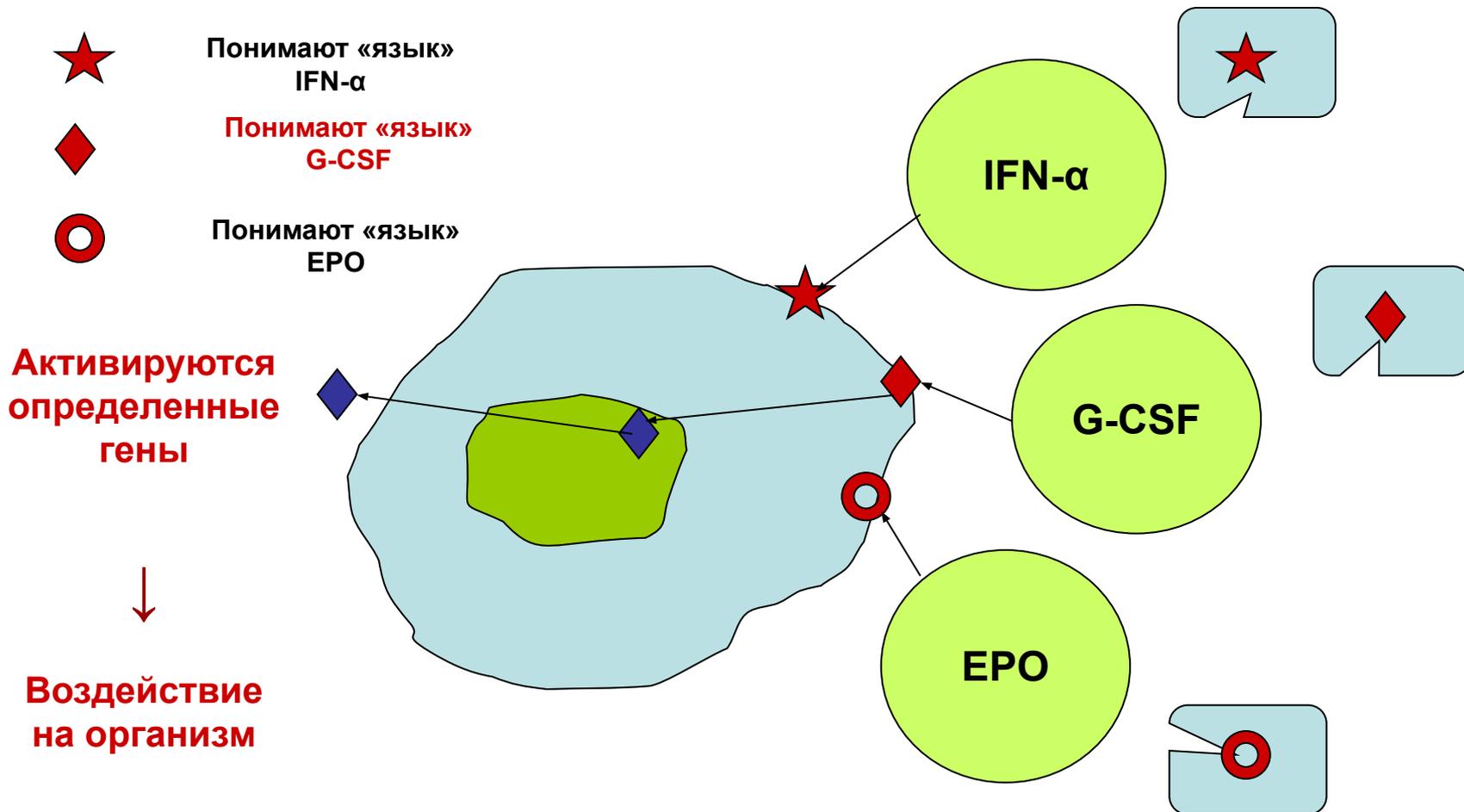
Эндотелиальные

Глиальные

Биологические функции G-CSF



Воздействие G-CSF на клетки-«мишени» опосредовано особым классом рецепторов

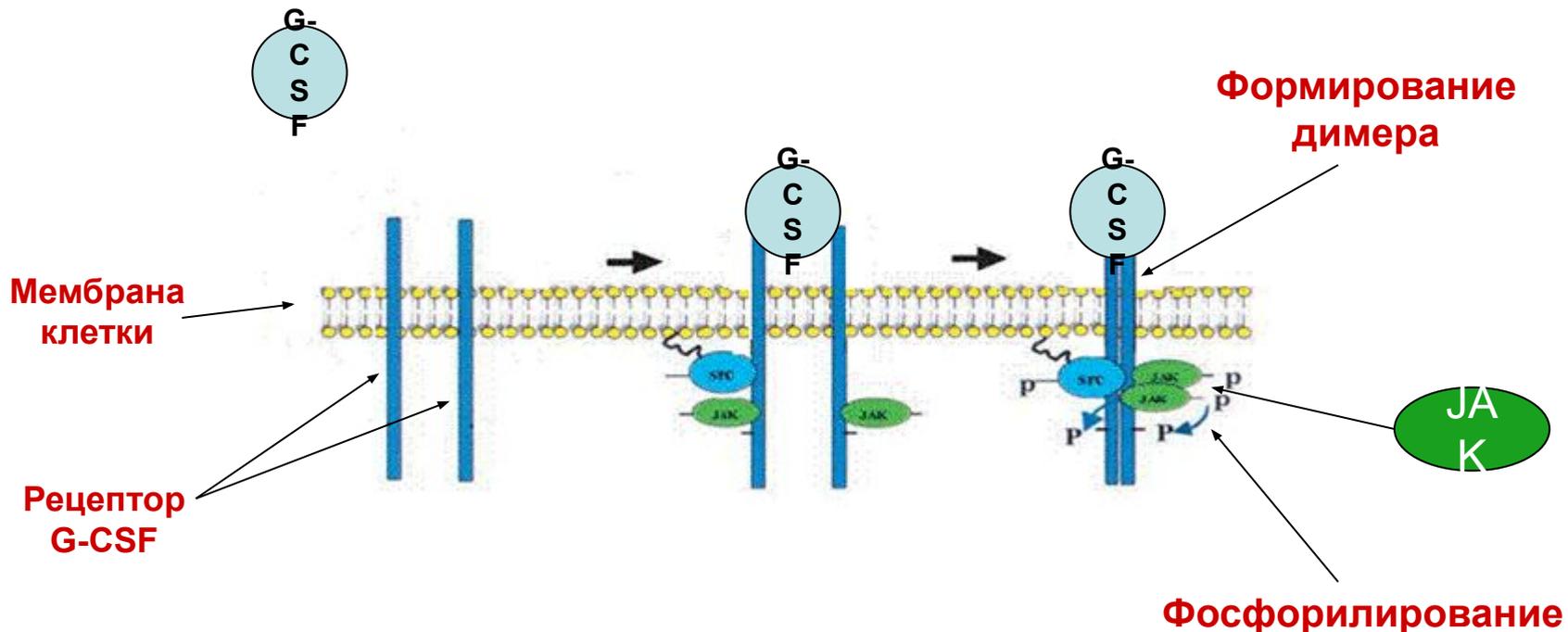


Биологические функции G-CSF

Осуществляются
в основном посредством
активации сигнального пути
JAK / STAT.

JAK / STAT —
Janus-киназа / сигнальные белки-трансдукторы
и активаторы транскрипции.

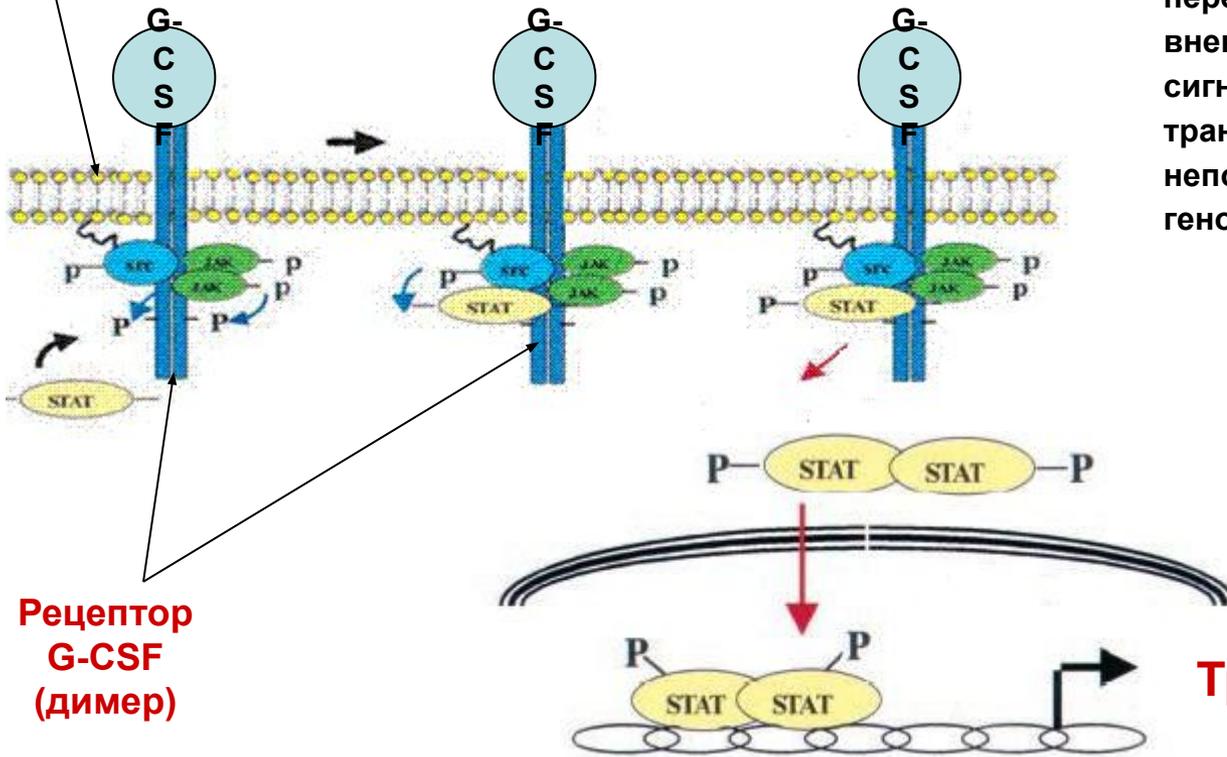
Сигнальный путь Jak / Stat, используемый G-CSF (1)



G-CSF использует свой трансмембранный рецептор для передачи информации внутрь клетки по пути, ключевой молекулой которого является **JAK**.

Сигнальный путь Jak / Stat, используемый G-CSF (2)

Мембрана
клетки



Рецептор
G-CSF
(димер)

Ядро клетки

ЖАК, в свою очередь,
использует белки **СТАТ** для
передачи информации от
внеклеточных полипептидных
сигналов (например, G-CSF) через
трансмембранные рецепторы
непосредственно к промоторам
генов-«мишеней» в ядре.

Транскрипция

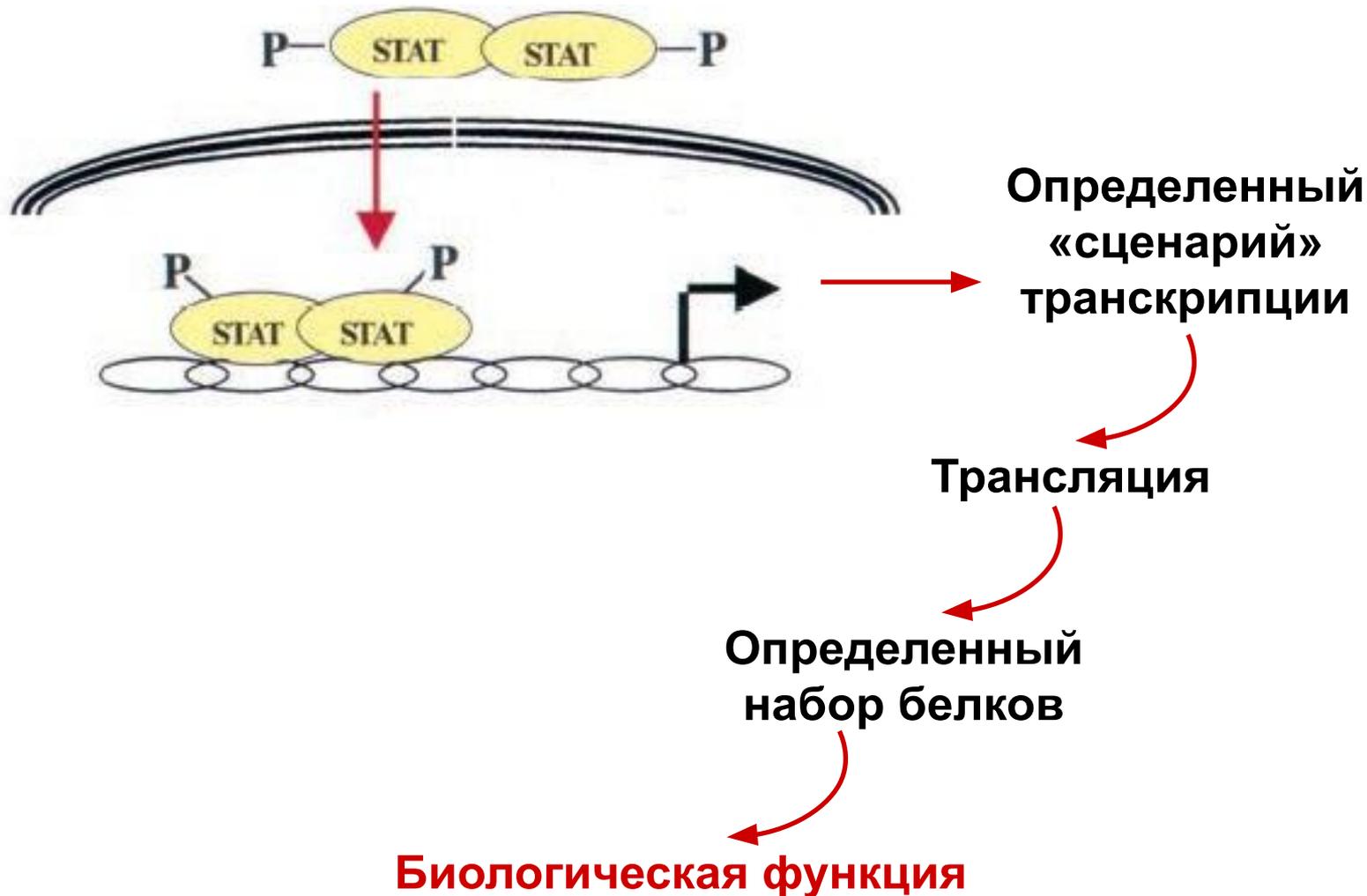
Janus-киназы (JAK) своим названием обязаны персонажу римской мифологии двуликому богу Янусу, т. к. обладают двойной функциональной способностью — активируют транскрипцию одних генов и репрессируют транскрипцию других.

Активация
транскрипции



Репрессия
транскрипции

Транскрипция — реализация генетически закодированной информации об определенной биологической функции



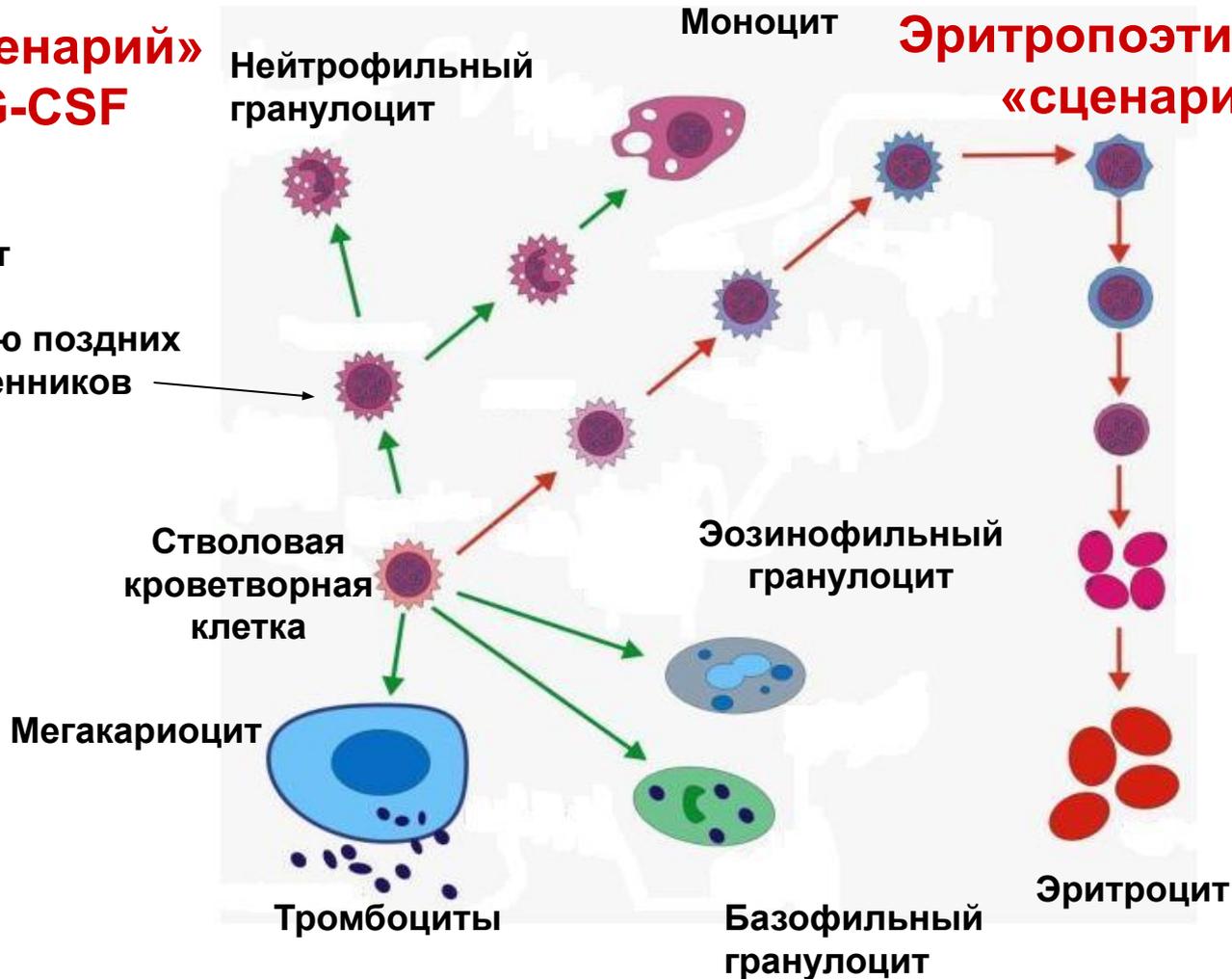
Разные «сценарии» транскрипции



Разные биологические функции

«Сценарий» G-CSF

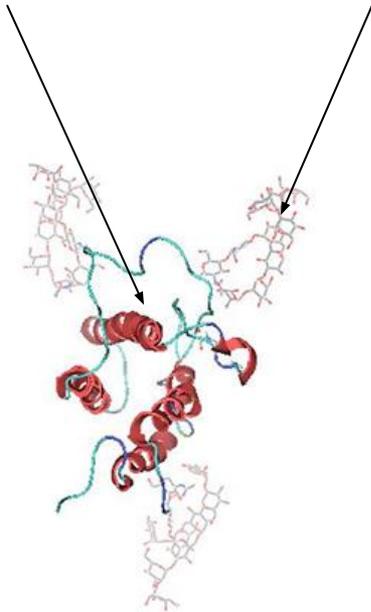
G-CSF стимулирует пролиферацию и дифференциацию поздних клеток-предшественников в нейтрофилы



G-CSF — гликопротеин

Молекула ЭПО:

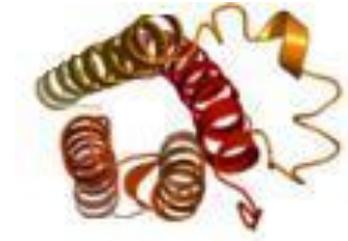
60% — белковая основа 40% — углеводная часть



Гликозилирование играет
важную роль

Молекула G-CSF:

углеводная часть — 4%



Гликозилирование не играет
важной роли
↓
Облегчен процесс производства

В клинической практике применяется рекомбинантный G-CSF

Клеточные
экспрессионные
системы для
производства
G-CSF

**Прокариотически
е**

Эукариотические

Рекомбинантный G-CSF без
гликозилирования
0% углеводов

(Filgrastim)

Рекомбинантный G-CSF с
гликозилированием
(около 4 % углеводов)

(Lenograstim)

Клинический эффект рекомбинантного G-CSF не зависит от гликозилирования, что подтверждено результатами ряда клинических исследований

- *Bönig H, Silbermann S, Weller S, Kirschke R, Körholz D, Janssen G, Göbel U, Nürnberger W. Glycosylated vs non-glycosylated granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) — results of a prospective randomised monocentre study. Bone Marrow Transplant. 2001*
- *Höglund M. Glycosylated and non-glycosylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) — what is the difference? Med Oncol. 1998 Dec;15(4):229-33. Review.*

Неуроген

- **Производитель** — Amgen, США.
- **Показания к применению**
- Снижение вероятности инфекции у пациентов с немиелоидными онкозаболеваниями, получающими иммуносупрессирующие лекарства, при приеме которых наблюдаются частые случаи тяжелой нейтропении с лихорадкой.
- Сокращение времени восстановления нейтрофилов и длительности лихорадки в ходе курсов химиотерапии у взрослых пациентов с острой миелоидной лейкемией.
- Сокращение продолжительности нейтропении и ассоциированных с ней клинических последствий, таких как фебрильная нейтропения, у пациентов с немиелоидными онкозаболеваниями, которым предстоит пройти процедуру разрушения костного мозга с последующей его трансплантацией.
- Мобилизация гематопозитических клеток-предшественников в периферической крови для сбора путем лейкофереза.
- Долгосрочное применение с целью снижения последствий нейтропении (например, при лихорадке, инфекциях, язвах ротовой полости) у симптоматических пациентов с врожденной, идиопатической и циклической нейтропенией.

Неуроген

- Человеческий гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF)
- Производится с помощью рекомбинантных технологий
- Неуроген® содержит 175 аминокислот и имеет молекулярный вес 18 800 дальтон.
- Неуроген® выделен из бактерии *E. coli*, в которую внедрен ген человеческого колониестимулирующего фактора.

Неуроген

- Неуроген® является торговым названием филграстима компании Amgen Inc. **Филграстим** — химическое название рекомбинантного человеческого гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (r-metHuG-CSF).
- Белок имеет аминокислотную последовательность, идентичную природной (полученной путем секвенирования ДНК), с добавлением N-концевого метионина, необходимого для экспрессии в *E. coli*. Поскольку Неуроген® получают из *E. coli*, то продукт не гликолизирован и этим отличается от G-CSF, выделенного из клеток человека.

Neurogen

- Neurogen® представляет собой стерильную прозрачную бесцветную жидкость без консервантов для парентерального введения; содержит филграстим с удельной активностью $1,0 \pm 0,6 \times 10^8$ МЕ/мг
- **Форма выпуска:** флаконы одноразового применения и презаполненные шприцы

Неуроген

Состав продукта для флаконов одноразового применения и презаполненных шприцов

	Флакон 300 мкг/1,0 мл	Флакон 480 мкг/1,6 мл	Шприц 300 мкг/0,5 мл	Шприц 480 мкг/0,8 мл
Филграстим	300 мкг	480 мкг	300 мкг	480 мкг
Ацетат	0,59 мг	0,94 мг	0,295 мг	0,472 мг
Сорбит	50,0 мг	80,0 мг	25,0 мг	40,0 мг
Полисорбат 80	0,04 мг	0,064 мг	0,02 мг	0,032 мг
Na ⁺	0,035 мг	0,056 мг	0,0175 мг	0,028 мг
Вода для инъекций	1,0 мл	1,6 мл	0,5 мл	0,8 мл

Neulasta

- **Производитель** — Amgen, США.
- **Показания к применению:**
снижение вероятности инфекции у пациентов с немиелоидными онкозаболеваниями, получающими иммуносупрессирующие лекарства, при которых наблюдаются частые случаи фебрильной нейтропении.

Neulasta

- Neulasta (пэгилированный филграстим) является ковалентным конъюгатом рекомбинантного человеческого Met-G-CSF (филграстим) и монометокси-ПЭГ.
- Для получения ПЭГ-филграстима молекула монометокси-ПЭГ с молекулярным весом 20 kD ковалентно связывается с N-концевым остатком метионина филграстима.
- Средний молекулярный вес ПЭГ-филграстима составляет ~39 kD.

Neulasta

- Neulasta представляет собой стерильный прозрачный бесцветный раствор без консервантов (pH 4,0).
- Neulasta выпускается в форме презаполненных шприцов объемом 0,6 мл для подкожного введения.
- Каждый шприц содержит: 6 мг ПЭГ-филграстима (в пересчете на массу белка); 0,35 мг ацетата; 30,0 мг сорбитола; 0,02 мг полисорбата 20; 0,02 мг Na⁺; воду для инъекций (USP).

Granocyte

- **Производитель** — Chugai Pharmaceutical Co. Ltd., Tokyo, Japan / Mayne Pharma Pty Ltd, Australia.
- **Показания к применению**
 - Снижение вероятности инфекции у пациентов с немиелоидными онкозаболеваниями, получающими иммуносупрессирующие лекарства и перенесшими аутологическую или аллогенную трансплантацию костного мозга либо лечение цитотоксическими препаратами.
 - Мобилизация периферических клеток-предшественников с помощью только GRANOCYTE или после миелосупрессивной химиотерапии для ускорения восстановления гемопоэза путем инфузии этих клеток у пациентов с немиелоидными онкозаболеваниями.
 - Ускорение приживления клеток-предшественников после их реинфузии.
 - Мобилизация периферических клеток-предшественников у здоровых доноров.
 - Лечение тяжелой врожденной нейтропении.

Granocyte

- Granocyte содержит ленограстим — рекомбинатный гликопротеин, эквивалентный человеческому гранулоцитарному колониестимулирующему фактору (G-CSF).
- Ленограстим получают из клеток млекопитающих (CHO).
- Ленограстим имеет молекулярный вес ~ 20 kD и состоит из 174 аминокислот и приблизительно 4% углевода.
- Анализ аминокислотной последовательности ленограстима показывает, что он идентичен природному G-CSF.

Granocyte

- **Форма выпуска** — лиофилизированный порошок во флаконе одноразового применения.
- GRANOCYTE 34 содержит 263 μg (33,6 млн МЕ) ленограсима в 1 мл.
- GRANOCYTE 13 содержит 105 μg (13,4 млн МЕ) ленограсима в 1 мл.
- GRANOCYTE поставляется с солянокислым буферным раствором (рН 6,5); содержит 2,5% маннитола; 1% аргинина; 1% фенилаланина; 0,1% метионина; 0,01% полисорбата 20.

Лейкостим

- **Производитель** — «Биокад», Россия.
- **Показания к применению**

Сокращение продолжительности нейтропении II–IV степени и снижение частоты фебрильной нейтропении у больных с немиелопролиферативными новообразованиями после химиотерапии цитостатическими препаратами.

Мобилизация гемопоэтических клеток-предшественников в периферическую кровь с целью последующей их сепарации и трансплантации после миелосупрессивной химиотерапии.

Сокращение продолжительности нейтропении и профилактики связанных с ней осложнений у больных, получающих миелоаблативную химиотерапию с последующей трансплантацией костного мозга.

Лечение тяжелой хронической нейтропении с целью увеличения числа нейтрофилов и снижения частоты и продолжительности инфекционных осложнений.

Лечение стойкой нейтропении у пациентов с развернутой стадией ВИЧ-инфекции (абсолютное число нейтрофилов меньше или равно $1,0 \times 10^9/\text{л}$) для снижения риска бактериальных инфекций.

Мобилизация гемопоэтических клеток-предшественников в периферическую кровь у здоровых доноров с целью последующей их сепарации и аллогенной трансплантации.

Лейкостим

- **Международное непатентованное название (МНН):** филграстим
- **Лекарственная форма:** раствор для внутривенного и подкожного введения

- **Состав**

1 мл раствора содержит:

активное вещество: филграстим 150 мкг или 300 мкг;

вспомогательные вещества:

декстран 60000, натрия ацетат, уксусная кислота, твин 80, вода для инъекций.

- **Описание:**

прозрачный бесцветный или светло-желтый раствор.

- **Форма выпуска**

1 мл препарата с концентрацией 150 мкг/мл; 1 мл и 1,6 мл препарата с концентрацией 300 мкг/мл во флаконах из нейтрального стекла, укупоренных фторрезиновыми или бутилрезиновыми пробками с тефлоновым покрытием, обжатых алюминиевыми колпачками. По 1 или 5 флаконов в контурной ячейковой упаковке из пленки ПВХ с инструкцией по применению в пачке из картона.

Филграстим

- **Производитель** — «Биофарма», Украина.
- **Показания к применению**
 - Сокращение продолжительности и снижение частоты возникновения нейтропении, сопровождающейся фебрильной реакцией, у больных, получающих химиотерапию цитотоксическими средствами, при немиелоидных злокачественных заболеваниях.
 - Сокращение продолжительности нейтропении и ее клинических последствий у больных, получавших миелоаблативную терапию с последующей пересадкой костного мозга.
 - Мобилизация аутологичных клеток — предшественников гемоцитов периферической крови (КПГПК), в том числе после миелосупрессивной терапии, для ускорения восстановления гемопоэза путем введения указанных клеток после миелосупрессии или миелоаблации.
 - Длительная терапия, направленная на увеличение количества нейтрофильных гранулоцитов, для снижения частоты и сокращения продолжительности инфекционных осложнений у детей и взрослых с тяжелой врожденной, периодической или злокачественной нейтропенией (абсолютное число нейтрофильных гранулоцитов < 500 в 1 мм^3) и тяжелыми или рецидивирующими инфекциями в анамнезе.

Филграстим

- **Международное непатентованное название:** Filgrastim
- **Основные свойства лекарственной формы:** бесцветная или слабоокрашенная, прозрачная или слабоопалесцирующая жидкость.
- **Состав**

Действующие вещества: филграстим 0,3 мг или 0,48 мг;
вспомогательные вещества: натрия ацетат, полисорбат 80, вода для инъекций.

- **Форма выпуска:**
раствор для инъекций во флаконах по 1,0 или 1,6 мл; по 1 флакону в картонной пачке.

Leukine (rhu GM-CSF) (sargramostim)

- **Производитель** — BERLEX, Bayer HealthCare Biopharmaceuticals, USA.
- **Показания к применению**
 - Использование при индукционной терапии миелоидного лейкоза у пациентов старше 65 лет для снижения риска тяжелой и крайне тяжелой нейтропении и снижения риска возникновения угрожающих жизни инфекционных осложнений.
 - Мобилизация после трансплантации аутологичных периферических клеток — предшественников крови.
 - Миелоидное восстановление после аллогенной и аутологической трансплантации костного мозга.
 - Неудачная трансплантация костного мозга или задержка приживления трансплантата.

LEUKINE уже был использован более чем у 338 000 онкологических пациентов в США.

Leukine

- LEUKINE® (сарграмостим) — это рекомбинантный человеческий грануло-макрофагальный колониестимулирующий фактор (rhu GM-CSF), произведенный с помощью рекомбинантной технологии в дрожжевой (*S. cerevisiae*) экспрессионной системе.
- GM-CSF — это гемопоэтический фактор роста, стимулирующий пролиферацию и дифференциацию гемопоэтических клеток-предшественников.
- LEUKINE — это гликопротеин, состоящий из 127 аминокислот, содержащих три основных молекулярных компонента, с молекулярным весом в 19500, 16800 и 15500 дальтон.
- Аминокислотная последовательность LEUKINE отличается от природного человеческого GM-CSF заменой лейцина в позиции 23. Углеводный компонент также может отличаться от природного аналога.

Leukine

- **Форма выпуска:**

- стерильный инъекционный раствор во флаконе (500 мкг/мл) с содержанием консерванта (1,1% бензилового спирта);
- стерильный белый лиофилизированный порошок (250 мкг) без консервантов, который необходимо растворить в 1 мл стерильной воды для инъекций (USP) или 1 мл бактериостатической воды для инъекций (USP).

Для подкожного и внутривенного введения.

- **Состав:**

- 1 мл раствора LEUKINE содержит 500 мкг ($2,8 \times 10^6$ МЕ/мл) сарграмостима; 1,9 мг/мл Na^+ EDTA; 1,1% бензилового спирта;
 - флакон лиофилизированного LEUKINE содержит 250 мкг ($1,4 \times 10^6$ МЕ/флакон) сарграмостима;
 - раствор LEUKINE во флаконе и лиофилизированный LEUKINE во флаконе также содержат 40 мг/мл маннитола (USP); 10 мг/мл сахарозы (NF); 1,2 мг/мл трометамин (USP).
- Удельная активность LEUKINE — приблизительно $5,6 \times 10^6$ МЕ/мг.

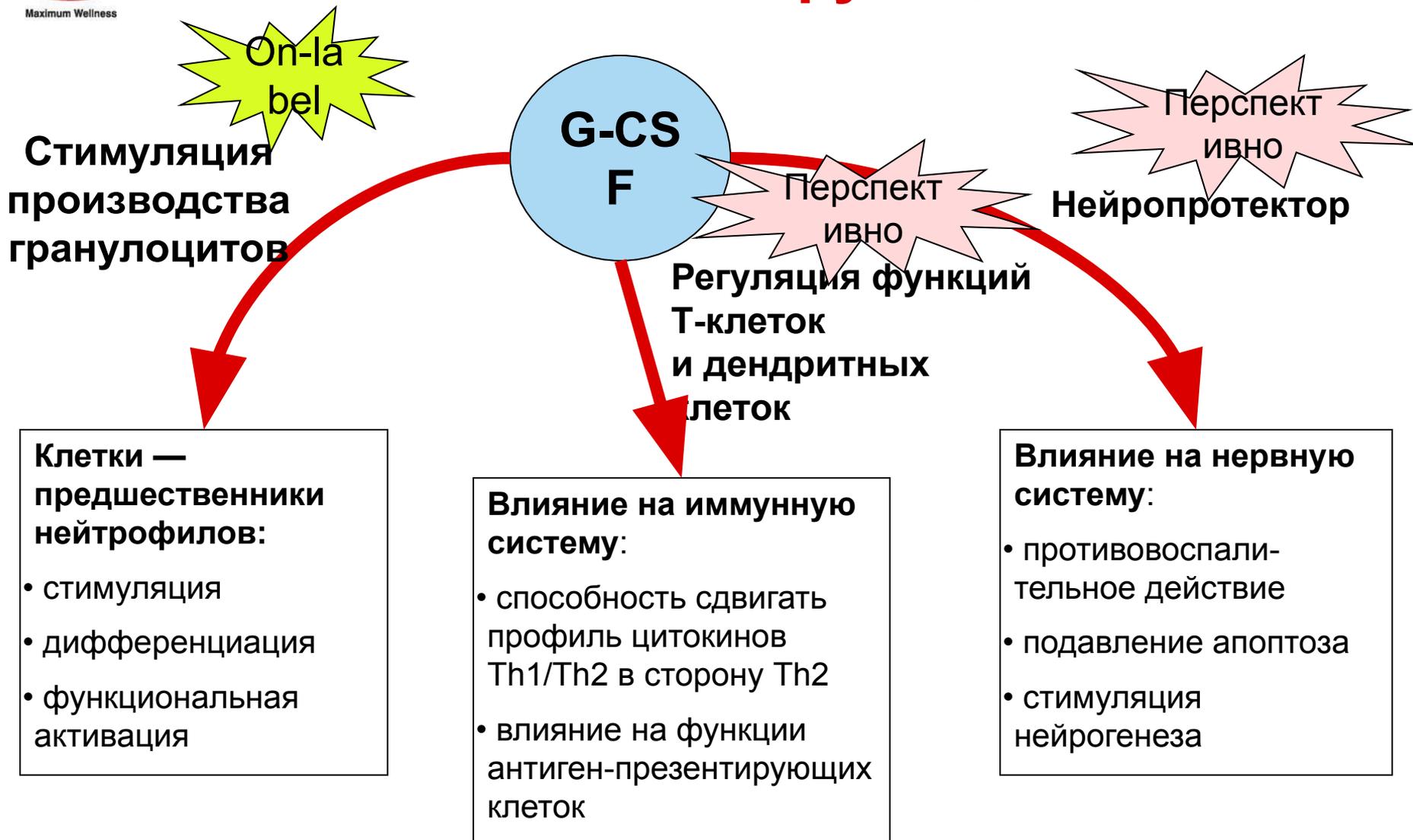
Leucotax (rhu GM-CSF)

- **Производитель** — Novartis/Schering-Plough, USA/Switzerland.
- **Показания к применению**
- При миелосупрессивной терапии (например, химиотерапии) для снижения тяжести нейтропении и, следовательно, снижения риска инфекции, а также соблюдения полной схемы химиотерапии.
- При аутологичной и сингенной пересадке костного мозга для ускорения восстановления миелоидной функции (Leucotax не увеличивает общую и безрецидивную выживаемость).

Leucomax

- **Действующее вещество (МНН)** — молграмостим (Molgramostim)
- **Форма выпуска:**
флаконы, содержащие лиофилизированный порошок для инъекций.
- Для внутривенного и подкожного введения.
- **Состав:**
1 флакон содержит 300 мкг ($3,33 \times 10^6$ IU) молграмостима; также 50,0 мг маннитола; 0,28 мг безводной лимонной кислоты; 2,6 мг двухосновного фосфата натрия; 0,1 мг ПЭГ; 1,0 мг человеческого альбумина.

Биологические функции G-CSF



“On-label” области клинического применения рекомбинантного G-CSF

Онкология, гематология

- Врожденные и приобретенные нарушения функции костного мозга
 - Нейтропения, вызванная химио- и радиотерапией
 - Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (hematopoietic stem cell transplantation)
- ✓ Широкое клиническое применение
- ✓ Безопасный и хорошо переносимый препарат, практически без серьезных побочных действий

Причины нейтропении при раке

Противоопухолевая терапия может сопровождаться широким спектром системных побочных эффектов. Наиболее частые — тошнота, рвота, миелодепрессия (лейко- и тромбоцитопения).

Обычно миелодепрессивный эффект возникает на 7–12 день после введения химиопрепаратов, но некоторые из них оказывают отсроченный эффект угнетения гемопоэза в более поздние сроки. Контроль за показателями периферической крови в ряде случаев целесообразно продолжить до 3–6 недель.

Гематологические осложнения противоопухолевой химиотерапии разной степени выраженности встречаются у 88% онкологических больных.

Факторы, влияющие на глубину и частоту гемопоэза, обусловлены резервом кроветворения, который, в свою очередь, определяется следующими факторами:

- 1) облучением или химиотерапией в анамнезе;*
- 2) метастазами рака в костный мозг;*
- 3) возрастом пациента;*
- 4) степенью истощения больного;*
- 5) типом химиотерапевтических препаратов;*
- 6) дозами и интервалами между курсами;*
- 7) методами введения и особенностями соматического статуса пациента (способностью всасывания и метаболизма препарата, болезнями печени или почек и т. д.).*

Причины нейтропении при раке (2)

- ✓ Принято считать, что для начала и проведения химиотерапии количество лейкоцитов в периферической крови должно составлять не менее 4000 в 1 мкл, а тромбоцитов — 120×10^9 ЕД/л. Поскольку основную защитную роль выполняют нейтрофилы, их число должно быть не менее 1500–2000 в 1 мкл.
- ✓ Согласно классификации ВОЗ, рассматривают 4 степени угнетения лейко- и гранулоцитоза.
- ✓ При третьей степени гранулоцитопений увеличивается риск развития инфекционных осложнений. При количестве гранулоцитов $0,1 \times 10^9$ ЕД/л велика опасность развития кандидозов и инфекции.
- ✓ При появлении пирогенной реакции возникает фебрильная нейтропения: при абсолютном числе нейтрофилов в лейкоформуле пациента менее 1000 в 1 мкл она сочетается с повышением температуры тела выше $38,3^\circ\text{C}$ однократно или 38°C двукратно с интервалом в 1 час.
- ✓ Если нейтропения длится более двух недель, увеличивается вероятность **тяжелых осложнений**. Показателем тяжести состояния является инфицированность микозной и грамотрицательной микрофлорой.

G-CSF в онкологии

В настоящее время для применения в онкологии коммерциализированы препараты:

4

Filgrastim (Neupogen) Amgen 5 мкг/кг/день

Lenograstim (Granocyte) Chugai 150 мкг/м²/день

Pegfilgrastim (Neulasta) Amgen 6 мг

Sargramostim GM-CSF (Leukine) Bayer 250 мг/м²/день

Применение G-CSF в онкологии

ASCO рекомендации (2006)

1. Снижение длительности нейтропении и частоты возникновения инфекционных осложнений:
 - после химиотерапии;
 - после радиотерапии, получаемой одновременно с химиотерапией;
 - после трансплантации костного мозга.
2. Увеличение интенсивности проводимой химиотерапии или уменьшение периода между курсами.
3. Проведение мобилизации при трансплантации костного мозга (аллогенной или аутологичной).
4. Адъювантная терапия при трансплантации клеток-предшественников.
5. Терапия острой лейкемии и миелодиспластического синдрома.
6. Лечение миелоидных опухолей.
7. Первичная и вторичная профилактика.

Химиоиндуцированная нейтропения. Первичная профилактика

ASCO рекомендации

Применение колониестимулирующего фактора показано пациентам, получающим лечение по химиотерапевтическим схемам, которые вызывают более 40% фебрильной нейтропении, или при определенных обстоятельствах, таких как:

- уже имевшая место нейтропения,
- прохождение курса радиотерапии;
- уже проведенная радиотерапия,
- имевшая место лихорадка, вызванная ХТ;
- выраженное нарушение иммунного статуса;
- инфекционные осложнения.



Химиоиндуцированная нейтропения. Вторичная профилактика

ASCO рекомендации

Использование CSFs может снизить вероятность фебрильной нейтропении в ходе последующих циклов химиотерапии.

В настоящий момент отсутствуют данные, свидетельствующие, что использование CSFs увеличивает частичную и общую выживаемость онкологических пациентов.

Применение G-CSF для увеличения интенсивности химиотерапии

- Многие исследования показали, что применение G-CSF позволяет значительно увеличить интенсивность доз химиотерапии.
- При этом известно, что прогноз течения болезни зависит от объема полученного лечения.
- Но показано, что, кроме онкогематологических заболеваний, увеличение дозы (по сравнению со стандартными дозировками) улучшает выживаемость и качество жизни пациента, продлевает период ремиссии.

Применение G-CSF для уменьшения периодов между курсами химиотерапии

Общеизвестно, что, для того чтобы уменьшить опухолевую массу, более эффективно увеличить частоту курсов химиотерапии, а не дозу препаратов.

Например. *Рак молочной железы* (Citron et al JCO 2003)

Введение комбинации доксорубицина, паклитаксела и циклофосфамида каждые 2 недели vs. каждые 3 недели показало **снижение риска рецидива** за 3 года на **26%** ($p = 0,010$) и **риска смерти на 31%** ($p = 0,014$).

Pivotal Trail

Filgrastim/Amgen

David C. Dale, Mary Ann Bonilla, Mark W. Davis, Arline M. Nakanishi, William P. Hammond, Joanne Kurtzberg, Winfred Wang, Ann Jakubowski, Elliott Winton, Parviz Lalezari, William Robinson, John A. Glaspy, Steve Emerson, Janice Gabrilove, Martha Vincent, and Laurence A. Boxer

A Randomized Controlled Phase 3 Trial of Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor (Filgrastim) for Treatment of Severe Chronic Neutropenia

Blood, Vol 8 1, No 10 (May 15). 1993: pp 2496-2502

В октябре 1988 — сентябре 1990 гг. 123 пациента с рекуррентной инфекцией и выраженной хронической нейтропенией (абсолютное количество нейтрофилов $0,5 \times 10^9$ ед/л) были включены в исследование 3-й фазы и разделены на 2 группы. Первая группа начала немедленно получать филграстим в дозе от 3,45 до 11,50 мг/кг/день; вторая группа — после 4 месяцев наблюдения. Всего филграстим получили 120 пациентов.

Выводы исследования

- **Отмечено 50-процентное снижение уровня и выраженности инфекционных явлений.**
- **Отмечено 70-процентное снижение потребления антибиотиков.**
- **Аспират костного мозга, взятый у пациентов, которые получали филграстим, показал повышение выработки и зрелости нейтрофилов.**
- **Отмечено повышение количества циркулирующих нейтрофилов.**

Pivotal Trail Lenograstim

GLUCKMAN, ELIANE , ROKICKA-MILEWSKA, RIITTA HANN, IAN 3, NIKIFORAKIS, EMMANOUEL ,TAVAKOLI, FILIPOS , COHEN-SCALI, SOPHIE, BACIGALUPO, ANDREA -FOR THE EUROPEAN GROUP FOR BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION WORKING PARTY FOR SEVERE APLASTIC ANEMIA

Results and follow-up of a phase III randomized study of recombinant human-granulocyte stimulating factor as support for immunosuppressive therapy in patients with severe aplastic anemia

Рандомизированное мультицентровое исследование; 102 пациента с тяжелой апластической анемией, получавших 12 недель стандартную химиотерапию с подкожным введением ленограстима и не имевших факторов роста гранулоцитов.

Выводы исследования

- **В группе ленограстима среднее время восстановления кроветворной функции было значительно короче (6 недель по сравнению с 16 неделями без применения факторов роста).**
- **Продолжительность нейтрофильного ответа была значительно больше в группе ленограстима.**
- **Медиана 5-летней выживаемости была одинаковой в обеих группах.**

Pivotal Trail Pegfilgrastim

M. D. Green, H. Koelbl, J. Baselga, A. Galid, V. Guillem, P. Gascon, S. Siena, R. I. Lalisang, H. Samonigg, M. R. Clemens, V. Zani¹¹, B. C. Liang¹¹, J. Renwick¹¹ & M. J. Piccart¹²*

A randomized double-blind multicenter phase III study of fixed-dose single-administration pegfilgrastim versus daily filgrastim in patients receiving myelosuppressive chemotherapy

Annals of Oncology 14: 29–35, 2003

Ноябрь 1999 — май 2000 г.; 157 пациенток с раком молочной железы были включены в исследование 3 фазы. Применявшаяся схема химиотерапии: доксорубицин-доксетаксел каждые 3 недели. Пациентки были разделены на получавших ПЭГ-филграстим 6 мг единоразово и получавших 5 мг/кг филграстим ежедневно.

Критериями сравнения были избраны такие показатели нейтропении, как частота, длительность и глубина.

Выводы исследования

- **Отмечена одинаковая эффективность единоразового введения ПЭГ-филграстима и ежедневного введения филграстима.**
- **Отмечено снижение частоты фебрильной нейтропении в группе ПЭГ-филграстима.**
- **Отмечена одинаковая безопасность введения ПЭГ-филграстима и филграстима.**

Иммунные и аутоиммунные заболевания

По данным исследований, проведенных на животных, G-CSF играет положительную роль в профилактике и лечении иммунных и аутоиммунных заболеваний, таких как:

- рассеянный склероз;
- системная красная волчанка;
- воспалительное заболевание кишечника (inflammatory bowel disease);
- диабет 1-го типа;
- реакция “трансплантат против хозяина” (при пересадке тканей).

Потенциальная область применения — аутоиммунные болезни человека.

Ссылка: J Immunol. 2005 Dec 1;175(11):7085-91.

Granulocyte colony-stimulating factor: a novel mediator of T-cell tolerance.

Rutella S, Zavala F, Danese S, Kared H, Leone G.



Нейропротекторные свойства G-CSF

G-CSF-рецептор имеется на нейронах различных участков головного и спинного мозга, что обуславливает:

- противовоспалительное действие G-CSF на ЦНС, которое основано на его способности модулировать воспалительный ответ (сдвигать Th1/Th2-баланс в сторону Th2);
- антиапоптотическое действие на нейроны (подавляет программируемую гибель клеток);
- стимуляцию нейрогенеза.

⇒ **Способен уменьшать отек, воспаление и гибель клеток мозга при травмах.**

⇒ **Стимулирует “восстановительные работы” после травмы.**

Ссылка: Solaroglu I, Cahill J, Jadhav V, Zhang JH. A novel neuroprotectant granulocyte-colony stimulating factor. Stroke. 2006 Apr;37(4):1123-8.



Инфаркт миокарда

- Применение G-CSF обусловлено его свойством стимулировать стволовые клетки и таким образом способствовать образованию новых кровеносных сосудов и восстановлению тканей поврежденного миокарда.
- Две альтернативные технологии:
 - 1) интракоронарное введение стволовых (экзо-, эндогенных) клеток;
 - 2) увеличение количества собственных циркулирующих стволовых клеток путем их мобилизации из костного мозга с помощью G-CSF.
- 7 КИ на разных стадиях (I–IV), 2004-2007 гг. (Недавние!)

Инсульт

Treatment With AX200 (G-CSF) for Acute Ischemic Stroke

Клиническое испытание, фаза II

Период: 12/2004–03/2007

Спонсор: Axaron Bioscience AG

42 пациента с церебральным инсультом

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00132470

Рандомизированное двойное слепое плацебоконтролируемое испытание с увеличением дозы; фаза IIa; исследующее лечение инсульта препаратом AX200 (G-CSF).

Цели исследования

- Оценка безопасности и переносимости препарата у пациентов с инсультом.
- Оценка эффективности препарата в сравнении с плацебо.

Колониестимулирующие факторы: многообещающее направление, но пока не утверждены для лечения инсульта

- Масштабные КИ пока не проводились.
- В пилотных КИ в результате применения G-CSF **незначительно снижалась смертность и необходимость в специальном уходе** (в 2 КИ; n = 46, odds ratio 0.21; 95% CI, 0 to 57.52) и **значительно повышалось количество лейкоцитов** (в 3 КИ; n = 91, weighted mean difference 27.56; 95% CI, 17.56 to 37.56).
- Дальнейшие рандомизированные контролируемые КИ по использованию G-CSF в процессе либо только что завершились, результаты обрабатываются.

Sprigg N and Bath PMW. Colony Stimulating Factors (Blood Growth Factors) Are Promising but Unproven for Treating Stroke. Stroke 2007; 38, 1997-8.



Нейтропения у ВИЧ-инфицированных

- Клинические исследования филграстима показали, что уменьшение нейтропении при ВИЧ **снижает уровень заболеваемости и смертности от бактериальных инфекций**. Испытание включало 258 ВИЧ-инфицированных с бактериальной инфекцией.
1. DR Kuritzkes. Neutropenia, Neutrophil Dysfunction, and Bacterial Infection in Patients with Human Immunodeficiency Virus Disease: The Role of Granulocyte Colony-Stimulating Factor // Clin Infect Dis. 2000 Feb;30(2):256-60.
 2. Kuritzkes DR, Parenti D, Ward DJ, et al. Filgrastim prevents severe neutropenia and reduces infective morbidity in patients with advanced HIV infection: results of a randomized multicenter controlled trial. AIDS 1998; 12:65–74.

Нейтропения у новорожденных

ER Gillan, RD Christensen, Y Suen, et al.

A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor Administration in Newborn Infants With Presumed Sepsis: Significant Induction of Peripheral and Bone Marrow Neutrophilia

Blood, Vol 84, No 5 (September I), 1994: pp 1427-1433

42 новорожденных с предполагаемым бактериальным сепсисом в первые три дня жизни были разделены на группы для получения плацебо либо разных доз рекомбинантного G-CSF человека.

Выводы исследования

- **Рекомбинантный G-CSF человека хорошо переносился.**
- **Индукировал существенное повышение абсолютной концентрации нейтрофилов в периферической крови и костном мозге.**
- **Необходимы дальнейшие клинические исследования возможности использования рекомбинантного G-CSF при сильном бактериальном сепсисе и нейтропении у новорожденных.**

Перспективные области применения

- Нейтропения в онкологии
- Терапия стволовыми клетками
- Болезнь Альцгеймера
- Нейтропения при ВИЧ
- Церебральный инсульт
- Аутоиммунные заболевания (рассеянный склероз, диабет 1-го типа, системная красная волчанка)