

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ANÁLISE DA MOBILIZAÇÃO, COLETA E INFUSÃO
DE CÉLULAS - TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DO
SANGUE PERIFÉRICO PARA TRANSPLANTE
AUTOGÊNICO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
DE SANTA MARIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Valúcia Scapin

Santa Maria, RS, Brasil.

2013

**ANÁLISE DA MOBILIZAÇÃO, COLETA E INFUSÃO DE
CÉLULAS - TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DO SANGUE
PERIFÉRICO PARA TRANSPLANTE AUTOGÊNICO NO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA**

Valúcia Scapin

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM,RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**

Orientador: Prof. Dr. José Edson Paz da Silva

Santa Maria, RS, Brasil.

2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado**

**ANÁLISE DA MOBILIZAÇÃO, COLETA E INFUSÃO DE CÉLULAS-
TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO PARA
TRANSPLANTE AUTOGÊNICO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE
SANTA MARIA**

elaborada por
Valúcia Scapin

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA

José Edson Paz da Silva, Dr.
(Presidente/Orientador)

Luciana Maria Fontanari Krause, Dr. (UNIFRA)

Rafael Noal Moresco, Dr. (UFSM)

Virgínia Maria Cóser, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 23 de janeiro de 2013.

AGRADECIMENTOS

A Deus, causa primeira de todas as coisas.

Em especial para minha coorientadora Dra Vrginia Maria Cóser, pelo incentivo e pela incansável dedicação e paciência.

Ao professor Dr. José Edson Paz da Silva por ter aceitado ser meu orientador neste estudo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria.

A todos, familiares e colegas, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A equipe do Centro de Transplante de Medula óssea e Banco de Sangue do Hospital Universitário de Santa Maria.

Aos pacientes, que foram os sujeitos deste estudo.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

ANÁLISE DA MOBILIZAÇÃO, COLETA E INFUSÃO DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO PARA TRANSPLANTE AUTOGÊNICO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA

AUTORA: Valússia Scapin

ORIENTADOR: José Edson Paz da Silva

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 23 de janeiro de 2013

O transplante de células-tronco hematopoiéticas periféricas constitui-se uma das opções terapêuticas para o tratamento de várias doenças hematológicas-oncológicas, podendo prolongar a sobrevida livre da doença e, às vezes, pode representar a cura para o paciente. Este é um estudo retrospectivo através da revisão de prontuários dos pacientes submetidos à mobilização, coleta e infusão de células-tronco hematopoiéticas periféricas para transplante autogênico, com o objetivo de avaliar estes procedimentos, identificar as características da população atendida e verificar a mortalidade relacionada ao transplante e sobrevida global dos pacientes transplantados. Foram incluídos 176 pacientes (78F/98M) do Serviço de Hematologia-Oncologia do Hospital Universitário de Santa Maria, no período de dezembro de 1996 a dezembro de 2011. Os diagnósticos incluíram: Mieloma Múltiplo (54), Linfoma de Hodgkin (47), Linfoma não Hodgkin (35), Leucemia Mielóide Aguda (16) e outras neoplasias (24), como Câncer de Mama, Tumor de Wilms, Sarcoma de Ewing, Neuroblastoma, Amiloidose, Tumor de Testículo, Meduloblastoma, Macroglobulinemia, Tumor de SNC. A mediana de idade dos pacientes foi de 42 anos (1 a 69 anos). Antes da mobilização de células-tronco, todos os pacientes já haviam sido submetidos a algum tratamento relacionado a doença de base e 31% haviam recebido radioterapia prévia. Os esquemas de mobilização incluíram fator de crescimento hematopoiético (G-CSF) associado ou não a diferentes quimioterapias. Foram realizadas 203 mobilizações e 474 leucoaféreses. O número desejado de células CD34+ na coleta foi de $2,0 \times 10^6$ /kg, sendo que a maioria dos pacientes (89,8%) alcançou a quantidade esperada. A mediana de células nucleadas totais coletadas foi de $7,01 \times 10^8$ /kg e de células CD34+ foi de $2,63 \times 10^6$ /kg, com mediana de duas leucoaféreses por paciente (1 a 6). Dos 176 pacientes do estudo, 120 foram submetidos a transplante autogênico de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico, sendo que três pacientes receberam duas infusões cada. A mediana de células nucleadas totais infundidas foi de $6,46 \times 10^8$ /kg e de células CD34+ foi de $3,17 \times 10^6$ /kg. Após a infusão das células-tronco hematopoiéticas, a recuperação dos neutrófilos ocorreu entre 7 e 28 dias (mediana 10 dias), enquanto as plaquetas entre os dias 8 e 79 (mediana 12 dias), sendo que em três pacientes não houve recuperação plaquetária. Foi encontrada correlação entre a quantidade de células CD34+ infundidas e recuperação de neutrófilos e plaquetas. A taxa de mortalidade relacionada ao transplante foi de 5%. A probabilidade de sobrevida global do grupo em um ano foi de 79,8% e em cinco anos de 55,1%. Em conclusão, este estudo demonstrou que a maioria dos pacientes atingiu a quantidade desejada de células CD34+ através das mobilizações e coletas e os resultados obtidos com os transplantes autogênicos foram semelhantes aos descritos na literatura.

Palavras-chave: Célula-Tronco Hematopoiética. Transplante Autogênico. Células CD34+.

ABSTRACT

Dissertation
Graduate Program in Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria

ANALYSIS OF THE MOBILIZATION, COLLECTION AND INFUSION OF PERIPHERAL BLOOD STEM CELLS (PBSC) FOR AUTOLOGOUS TRANSPLANTATION IN THE UNIVERSITY HOSPITAL OF SANTA MARIA

AUTHOR: Valúcia Scapin

ADVISOR: José Edson Paz da Silva

Date and Place of Defence: Santa Maria, January 23, 2013

The transplantation of hematopoietic peripheral blood stem cells is one of the therapeutic choices for the treatment of various hematological and oncological diseases, extending disease-free survival and, in some cases, providing the cure of the patient. This is a retrospective study in which the medical records of patients who underwent mobilization, collection and infusion of peripheral hematopoietic stem cells for autologous transplantation were analyzed with the objective of evaluating these procedures, identifying the characteristics of the population assisted and verifying the transplant-related mortality and overall survival of transplanted patients. The study analyzes 176 patients (78F/98M) of the Hematology-Oncology Service of the University Hospital of Santa Maria (HUSM) in the period between December 1996 and December 2011. The diagnoses included: Multiple Myeloma (54), Hodgkin Lymphoma (47), Non Hodgkin Lymphoma (35), Acute Myeloid Leukemia (16) and other neoplasias (24) such as Breast Cancer, Wilms Tumor, Ewing's Sarcoma, Neuroblastoma, Amyloidosis, Testicular Tumor, Medulloblastoma, Macroglobulinemia, CNS Tumor. The median age of the patients was 42 years (1 to 69 years). Before the stem cells mobilization, all the patients had already been submitted to some kind of treatment related to the disease and 31% had received previous radiotherapy. The mobilization schema included hematopoietic growth factor (G-CSF) associated our not whit different chemotherapies. The number of mobilization and leukapheresis carried out were 203 and 474 respectively. The desired number of CD34+ cells in the collection was $2,0 \times 10^6/\text{kg}$, considering that the majority of patients achieved the quantity expected. The median of total nucleated cells collected was $7,01 \times 10^8/\text{kg}$ and of CD34+ cells it was of $2,63 \times 10^6/\text{kg}$, with a median of two leukapheresis per patient (1 to 6). Of the 176 patients in this study 120 patients were submitted to autologous transplantation, three received two infusions each. The median of total nucleated cells infused was $6,46 \times 10^8/\text{kg}$ and of CD34+ cells was $3,17 \times 10^6/\text{kg}$. After the infusion of hematopoietic stem cells, the recovery of neutrophils occurred between 7 and 28 days (median 10 days), while the platelets between 8 and 79 (median 12 days), considering that three patients did not have platelet recovery. The correlation between the quantity of CD34+ cells infused and the recovery of neutrophils and platelets was verified. Transplant-related mortality was 5%. The probability of overall survival of the group in a year was of 79,8% and 55,1% in five years. In conclusion, this study demonstrated that the majority of the patients achieved the desired number of CD34+ cells through mobilization and collection and the results obtained with autologous transplantation were similar to those described in the literature.

Key words: Hematopoietic Stem Cell. Autologous Transplantation. CD34+ Cells.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1 – ANALYSIS OF THE MOBILIZATION AND COLLECTION OF PERIPHERAL BLOOD STEM CELLS (PBSC) FOR AUTOLOGOUS TRANSPLANTATION IN THE UNIVERSITY HOSPITAL OF SANTA MARIA

Table 1 - Characteristics of the patients submitted to collection and mobilization.....	22
Table 2 - Mobilization regimens.....	23
Table 3 - Comparison of the performance with mobilization regimens.....	23
Table 4 - Data collected from PBSC.....	24
Table 5 - Comparison between the collection and diagnoses variables.....	25
Table 6 - Previous chemotherapies.....	25
Table 7 - Daily performance of total nucleated cells x 10 ⁸ /kg (TNC) and CD 34+ x 10 ⁶ /kg cells.....	26

MANUSCRITO 1 – TRANSPLANTE AUTOGÊNICO DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO, MORTALIDADE RELACIONADA AO TRANSPLANTE E SOBREVIDA GLOBAL DOS PACIENTES ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA

Tabela 1 - Características dos pacientes transplantados.....	36
Tabela 2 - Quantidade de células infundidas.....	36
Tabela 3 - Tempo entre o diagnóstico da doença e a realização do transplante (em dias).....	37
Tabela 4 - Recuperação de neutrófilos e plaquetas.....	37
Tabela 5 - Comparação entre as variáveis do transplante e diagnósticos.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

ACD-A	– Anticoagulante citrato-dextrose-A
CD	– Cluster of differentiation
CEP	– Comitê de Ética em Pesquisa
CTCriaC	– Centro de Tratamento da Criança e Adolescente com Câncer
CTH	– Células-tronco hematopoiéticas
CTHSP	– Células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico
CTMO	– Centro de Transplante de Medula Óssea
DMSO	– Dimetil sulfóxido
G-CSF	– Fator estimulador de colônias de granulócitos
GM-CSF	– Fator estimulador de colônias de granulócitos-monócitos
HUSM	– Hospital Universitário de Santa Maria
ICE	– Ifosfamida, carboplatina, etoposide
LH	– Linfoma de Hodgkin
LMA	– Leucemia Mielóide Aguda
LNH	– Linfoma não Hodgkin
MM	– Mieloma Múltiplo
MRT	– Mortalidade relacionada ao transplante
PNET	– Tumor neuroectodérmico primitivo
SCF	– Stem Cell Factor
SG	– Sobrevida global
TACTH	– Transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas
TCTH	– Transplante de células-tronco hematopoiéticas
TMO	– Transplante de medula óssea
UFSM	– Universidade Federal de Santa Maria

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 – Carta de Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa	53
Anexo 2 – Comprovantes de submissão do artigo Analysis of Mobilization and Collection of Peripheral Blood Stem Cells (PBSC) for Autologous Transplantation in the University Hospital of Santa Maria	54

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
ARTIGO 1 – ANALYSIS OF THE MOBILIZATION AND COLLECTION OF PERIPHERAL BLOOD STEM CELLS (PBSC) FOR AUTOLOGOUS TRANSPLANTATION IN THE UNIVERSITY HOSPITAL OF SANTA MARIA.....	17
Abstract.....	17
Resumo.....	18
Introduction.....	19
Methods.....	20
Results.....	21
Discussion.....	26
Conclusion.....	29
References.....	29
MANUSCRITO 1 – TRANSPLANTE AUTOGÊNICO DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO, MORTALIDADE RELACIONADA AO TRANSPLANTE E SOBREVIDA GLOBAL DOS PACIENTES ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA.....	32
Resumo.....	32
Abstract.....	33
Introdução.....	33
Métodos.....	34
Resultados.....	35
Discussão.....	40
Conclusão.....	42
Referências.....	42
DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS.....	48

INTRODUÇÃO

Em 1949 com os estudos de Jacobson *et al*, iniciou-se a história dos transplantes de medula óssea (TMO). Após, em 1951, Lorenz *et al* demonstraram que porcos da índia irradiados foram protegidos pela infusão de medula óssea. Em 1956, Barnes *et al* descreveu como camundongos leucêmicos foram tratados com irradiação supraletal seguida da infusão de medula óssea de camundongos não leucêmicos. Lovelock e Bishop em 1959 utilizaram o dimetil sulfóxido (DMSO) como crioprotetor para medula óssea, sendo até os dias atuais o produto de escolha. Desde 1962 é conhecido que precursores hematopoiéticos circulavam no sangue periférico de humanos e animais, e transplantes autólogos (ou autogênicos) foram realizados em cães no início dos anos 60. No final de 1950 e início de 1960 as primeiras infusões com medula óssea autóloga foram realizadas em humanos. Na década de 1970 ocorreu a demonstração de que a quimioterapia era capaz de induzir o aumento das células-tronco hematopoiéticas (CTH) circulantes. No final da década de 1980 observou-se que o G-CSF (fator estimulador de colônias de granulócitos) mobilizava as CTH para a circulação e que estas podiam ser usadas para transplante (COVAS, 2009).

Assim, o potencial de aplicação de células-tronco do sangue periférico em seres humanos tem emergido. Técnicas de mobilização desenvolvidas para aumentar o número de células-tronco na circulação otimizaram o tempo de coleta por aférese e o progresso na identificação dessas células por imunofenotipagem (a partir da década de 1990) permitiram a transição do uso de medula óssea para sangue periférico (BANDARENKO e BRECHER, 2001).

No Brasil, o primeiro TMO foi realizado em 1979 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (VOLTARELLI; *et al*, 2009). No ano de 1990 foi realizado o primeiro TMO alogênico no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), e em 1996 foi inaugurado o Centro de Transplante de Medula Óssea (CTMO) no HUSM.

As CTH possuem a capacidade de diferenciar-se em todos os elementos figurados do sangue (leucócitos, hemácias e plaquetas), mantendo ao mesmo tempo a capacidade de auto-renovação, garantindo a manutenção da hematopoese (BITTENCOURT e ROCHA, 2006).

As células hematopoiéticas mobilizadas da medula óssea para o sangue periférico a fim de serem coletadas constituem-se de distintas populações: células-tronco verdadeiras e células progenitoras diferenciadas, que com frequência são referidas coletivamente como células-tronco (BENSINGER; *et al*, 2009).

O transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH), mais conhecido como TMO, consiste na infusão intravenosa de células-tronco ou células progenitoras viáveis da medula óssea ou sangue periférico após altas doses de agentes quimioterápicos, associados ou não a radioterapia corporal, visando a eliminação das células doentes. O TCTH permite a recuperação da hematopoese do paciente (PETRILLI; *et al*, 2000). É um procedimento terapêutico que tem se tornado mais frequente no tratamento de várias doenças, de natureza hematológica e outras, tendo como fontes de células-tronco a medula óssea, o sangue periférico e o sangue de cordão umbilical (MASSUMOTO e MIZUKAMI, 2000).

Existem três tipos de TMO: transplantes autogênicos quando as células-tronco enxertadas são do próprio paciente, transplantes alogênicos quando as células-tronco provêm de um doador aparentado ou não, e transplantes singênicos quando o doador é um gêmeo univitelino.

A cada ano, estima-se que sejam realizados no mundo entre 50 e 60 mil transplantes de medula óssea. Considerando-se apenas os transplantes autogênicos, o sangue periférico é utilizado em 90% dos casos; há raríssimos relatos de uso de sangue de cordão umbilical autólogo. Após a quimioterapia de mobilização, as CTH são colhidas e podem ser mantidas criopreservadas por vários anos, até o momento do transplante.

O prognóstico dos pacientes transplantados autogênicos e alogênicos, vem melhorando nas últimas décadas em consequência da melhoria no tratamento de suporte, e com isso há redução da mortalidade relativa ao procedimento. Apesar disso, a mais importante causa de falha do tratamento permanece sendo a recidiva da doença maligna (SEBER, 2009).

O antígeno CD34 é o principal marcador das CTH, que correspondem 0,05% a 0,5% do total de células da medula óssea e sangue de cordão umbilical, e menos de 0,05% no sangue periférico. Cerca de 1% a 3% das células mononucleares da medula óssea expressam esta proteína de superfície (NARDI e ALFONSO, 2006; SUTHERLAND; *et al*, 1993)

A dose mínima de células CD34+/kg necessária para a restauração da hematopoese não está definida, em parte porque muitos regimes quimioterápicos não são totalmente mieloablativos. O uso de $5,0 \times 10^6$ células CD34+/kg é ótimo para infusão, o uso de 2,5 ou mais, é aceitável, e em pacientes que apenas atingem a dose entre 1,0 e $2,5 \times 10^6$ células CD34+/kg, a decisão de realizar o procedimento de altas doses de quimioterapia deve ser individualizado (COOPER e SEROPIAN, 2005).

No TCTH o fator mais confiável para predizer a recuperação hematológica é a dose de células CD34+ do produto infundido. A infusão de dose igual ou maior que $2,5 \times 10^6$ células

CD34+/kg é suficiente para o enxerto de neutrófilos e plaquetas (ERGENE; *et al*, 2007).

No CTMO do HUSM, o rendimento mínimo desejável é de $2,0 \times 10^6$ células CD34+/kg.

A presença de CTH na medula óssea ocorre pelo envolvimento de interações de adesividade reguladas entre as células e o microambiente hemopoético, mediadas por células estromais. Esta adesão das células hematopoiéticas aos elementos estromais é mediada por várias moléculas da família das integrinas beta-1 e beta-2, bem como das L-selectinas, como a beta-1-integrina VLA-4 (*very late antigen*) e a beta-2-integrina LFA-1 (*leucocyte function-associated molecule*). Estudos sugerem que a beta-1-integrina VLA-4 e a L-selectina são provavelmente, as moléculas mais envolvidas na adesão da célula-tronco à matriz extracelular. O uso dos fatores de crescimento hematopoiéticos promove alterações desta adesão levando a circulação de células-tronco (Figura 1) (KESSINGER e SHARP, 2003; SOUZA; *et al*, 2009).

Durante a fase de recuperação medular após quimioterapia não mieloablativa também ocorre um aumento transitório das células CD34+ no sangue periférico, pela expansão e ativação dos granulócitos após supressão da medula óssea (BENSINGER; *et al*, 2009; SOUZA; *et al*, 2009).

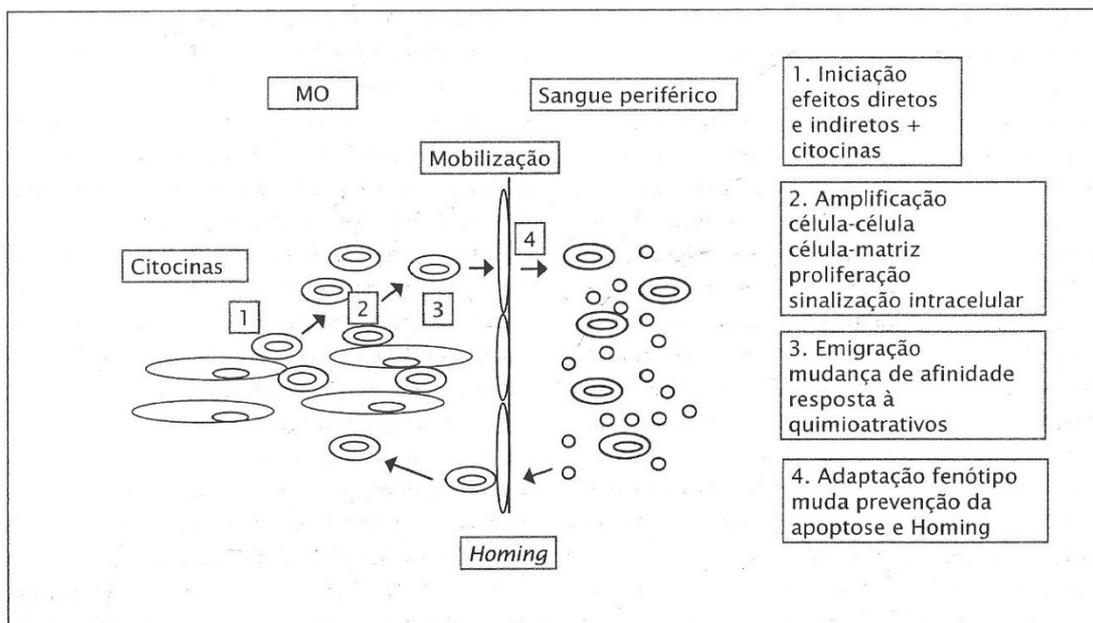


Figura 1 – Principais etapas da mobilização das células-tronco hematopoiéticas para o sangue periférico. MO = medula

Fonte: JC Voltarelli, R Pasquini, ETT Ortega. Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas. São Paulo: Editora Atheneu; 2009, p.569.

Apesar de representar menos de 0,05% das células sanguíneas em condições normais, o aumento das células CD34+ circulantes pode ser alcançado utilizando vários esquemas de mobilização. A maneira mais usada para promover a circulação de células CD34+ envolve o uso de fatores de crescimento estimulantes hematopoiéticos, que podem ser usados associados ou não à quimioterapia. A combinação de fator de crescimento e quimioterapia resulta em uma maior mobilização das células para o sangue periférico. A citocina mais comumente usada é o fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) devido a sua eficácia quando comparada com outras (GM-CSF, SCF, eritropoetina) e por apresentar perfil de toxicidade relativamente pequeno (ROWLEY, 2000).

Entre 5% a 46% dos pacientes submetidos à mobilização de CTH não alcançam a dose pré-fixada e então são considerados como mobilizadores pobres. Idade, sexo, diagnóstico e estágio da doença, envolvimento da medula, radioterapia prévia, tempo de diagnóstico, tempo entre a última quimioterapia e o regime de mobilização, agentes alquilantes com sabido efeito tóxico no compartimento das CTH, febre de origem desconhecida, dose e administração do fator de crescimento tem sido considerados como possíveis fatores de prognóstico negativo em diferentes pacientes (PERSEGHIN; *et al*, 2009).

Os separadores celulares são utilizados para coletar as CTHSP através da leucoaférese. O acesso venoso utilizado nesses procedimentos geralmente ocorre através de veia periférica ou por intermédio de cateteres instalados em vasos de maior calibre (ALVES; *et al*, 2001). O número de células-tronco desejado é o principal determinante do número de procedimentos de coleta a serem realizados (PETRILLI; *et al*, 2000).

Muitas controvérsias ainda existem acerca do período para o início do procedimento de aférese. A determinação de células CD34+ no sangue periférico é o melhor marcador para o rendimento de células na leucoaférese do que a contagem de leucócitos do sangue periférico, sendo recomendado para determinar o tempo de coleta e para monitoramento da qualidade do produto reinfundido no paciente (FONTÃO-WENDEL; *et al*, 1999).

Uma etapa importante no processo de transplante autogênico é a criopreservação das CTH. O congelamento requer o uso de substâncias crioprotetoras capazes de preservar a viabilidade celular em baixas temperaturas. O DMSO é o crioprotetor utilizado pela maioria dos programas de TMO devido à baixa toxicidade na infusão direta aos pacientes (COOTLER-FOX, 1998).

A CTH é capaz de reconstituir a função da medula óssea depois da irradiação letal. Esta reconstituição hematopoiética sustentada após transplante é referida como enxertamento (COTTLER-FOX, 1996).

Há uma correlação significativa entre quantidades de células infundidas e o tempo de enxertamento de neutrófilos e plaquetas. De um modo geral, as correlações entre as contagens de CD34+ com os tempos de enxertia são maiores do que as correlações do número total de células infundidas com os mesmos tempos (CASTRO JR; *et al*, 2003; FONTÃO-WENDEL; *et al*, 1999).

A velocidade de recuperação da hematopoese pós-transplante é influenciada pela origem das células-tronco (medula óssea, sangue de cordão umbilical ou sangue periférico), sendo que a reconstituição medular é mais rápida com células-tronco do sangue periférico comparada com as provenientes da medula óssea (VIGORITO e SOUZA, 2009).

Considera-se “pega” do transplante quando os granulócitos atingem uma contagem igual ou superior a 500/ μ L por dois dias consecutivos e as plaquetas, uma contagem igual ou superior a 20000/ μ L sem necessidade de transfusão por uma semana (ALVES; *et al*, 2001).

A sobrevida global (SG) é definida pela análise de tempo de vida dos pacientes após o transplante, sem considerar se houve ou não recidivas, ou simplesmente pela observação se o paciente está vivo ou não em um determinado período de tempo (MIRANDA; *et al*, 2009).

A mortalidade relacionada ao transplante (MRT) refere-se ao óbito do paciente nos primeiros 100 dias após o transplante. Nos transplantes autogênicos varia de 5 até 20%, dependendo da doença de base e das condições clínicas do paciente (NUCCI e MAIOLINO, 2000).

Decorridos mais de 14 anos do CTMO em Santa Maria, RS (1996 a 2011), dados epidemiológicos a respeito dos pacientes com doenças hematológicas-oncológicas submetidos ao transplante autogênico permanecem escassos. Portanto há necessidade de analisar os resultados obtidos com os procedimentos de mobilização, coleta e infusão de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico (CTHSP) dos pacientes atendidos no CTMO do HUSM.

Esta dissertação está estruturada conforme a MDT 2012 da UFSM em formato de artigo científico que já foi submetido à Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e de um manuscrito, a ser submetido após análise da comissão examinadora.

Este estudo teve como objetivo geral investigar as características e a sobrevida dos pacientes hematológicos-oncológicos submetidos à mobilização, coleta e infusão de CTHSP atendidos no CTMO do HUSM.

Os objetivos específicos do estudo foram:

- Caracterizar o grupo de pacientes submetidos à mobilização e coleta de CTHSP, assim como o grupo de pacientes submetidos ao TMO;

- Correlacionar quantidades de células CD34+ obtidas por aférese em relação ao sexo e idade dos pacientes; com diferentes mobilizações e doenças;
- Verificar influência da quimioterapia e da radioterapia prévias na quantidade de células CD34+ obtidas por aférese;
- Correlacionar o número de células CD34+ infundidas nos pacientes com recuperação de neutrófilos e plaquetas;
- Avaliar a mortalidade relacionada ao transplante e a sobrevida global dos pacientes transplantados.

ARTIGO 1 – Submetido à Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia em 27/12/2012.

ANALYSIS OF THE MOBILIZATION AND COLLECTION OF PERIPHERAL BLOOD STEM CELLS (PBSC) FOR AUTOLOGOUS TRANSPLANTATION IN THE UNIVERSITY HOSPITAL OF SANTA MARIA

Valússia Scapin: Serviço de Hematologia-Oncologia – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria – RS – Brasil

Dalnei Veiga Pereira: Serviço de Hematologia-Oncologia – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria – RS – Brasil

Waldir Veiga Pereira: Serviço de Hematologia-Oncologia – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria – RS – Brasil

Liliane Zimmermann de Oliveira: Serviço de Hematologia-Oncologia – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria – RS – Brasil

Cristiane Fração Diefenbach: Serviço de Hematologia-Oncologia – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria – RS – Brasil

Virgínia Maria Cóser: Serviço de Hematologia-Oncologia – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria – RS – Brasil

José Edson Paz da Silva: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria – RS – Brasil

ABSTRACT

Objective: Evaluate the results of the mobilization and collection of peripheral blood stem cells (PBSC) and identify the characteristics of patients.

Methods: The medical records of 176 patients diagnosed with Multiple Myeloma (MM), Hodgkin Lymphoma (HL), Non Hodgkin Lymphoma (NHL), Acute Myeloid Leukemia (AML) and other neoplasias were reviewed retrospectively in the period between December 1996 and 2011.

Results: The median age of the patients was 42 years old, with 76.6% adults and 23.3% pediatric patients. The most frequent diagnoses were MM (30.7%), HL (26.7%) and NHL

(19.9%). The methods and mobilization regimens included the use of G-CSF associated or not with different chemotherapy medication: cyclophosphamide; ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) and chemotherapy drugs related to the patient's treatment. A number of 203 mobilizations and 474 collections were performed with an average of 2.33 collections per patient. The regimen of mobilization with the best CD34+cell performance was G-CSF plus chemotherapy drugs related to the patient's treatment. The median performance of total nucleated cells obtained in the study was $7.01 \times 10^8/\text{kg}$ and $2.63 \times 10^6/\text{kg}$ for CD34+ cells. Eighteen patients (10.2%) did not achieve the number desired after mobilization and collection, however, the majority of the patients (89.8%) achieved the CD34+ cell count expected.

Conclusion: It was verified that factors such as diagnosis, previous chemotherapy and radiotherapy treatment, mobilization regimen, leukocyte count in the beginning of the collection, the days of administration of G-CSF and the post-chemotherapy days of the mobilization should be considered for the collection of PBSC, noting that before the procedures each patient should be evaluated in relation to his/her disease and evolution phase.

Key words: Autologous Transplant; Hematopoietic Stem Cells; Leukapheresis.

RESUMO

Objetivo: Avaliar os resultados da mobilização e coleta de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico (CTHSP) e identificar as características dos pacientes atendidos na instituição.

Métodos: Foram revisados retrospectivamente os prontuários de 176 pacientes com diagnósticos de Mieloma Múltiplo (MM), Linfoma de Hodgkin (LH), Linfoma não Hodgkin (LNH), Leucemia Mielóide Aguda (LMA) e outras neoplasias no período de dezembro de 1996 e 2011.

Resultados: A mediana de idade dos pacientes foi de 42 anos, sendo 76,6% adultos e 23,3% pediátricos. Os diagnósticos mais frequentes foram MM (30,7%), LH (26,7%) e LNH (19,9%). Os métodos e regimes de mobilização incluíram o uso de G-CSF associado ou não a diferentes quimioterápicos: ciclofosfamida; ifosfamida, carboplatina e etoposide (ICE) e quimioterápicos relacionados ao tratamento do paciente. Foram realizadas 203 mobilizações e 474 coletas com média de 2,33 coletas por paciente. O regime de mobilização com melhor rendimento de células CD34+ foi G-CSF associado a quimioterápicos relacionados ao

tratamento do paciente. A mediana de rendimento de células nucleadas totais obtida no estudo foi $7,01 \times 10^8/\text{kg}$ e de células CD34+ foi $2,63 \times 10^6/\text{kg}$. Dezoito pacientes (10,2%) não atingiram o número desejado após mobilização e coleta, sendo que a maioria dos pacientes (89,8%) atingiu a contagem de células CD34+ esperada.

Conclusão: Constatou-se que fatores como o diagnóstico, o tratamento prévio de quimioterapia e radioterapia, o regime de mobilização, a contagem de leucócitos no início da coleta, os dias de administração de G-CSF e os dias pós-quimioterapia de mobilização necessitam ser considerados para a coleta de CTHSP, sendo que antes dos procedimentos cada paciente deve ser avaliado em relação a sua Doença e fase de evolução.

Palavras-chave: Transplante autólogo; célula-tronco hematopoiética; leucaférese.

INTRODUCTION

The treatment with hematopoietic stem cells (HSC) is one of the modalities of cellular therapy which has shown increasing efficacy on the treatment of adult and pediatric patients with malignant and benign diseases¹. Even though it represents less than 0.05% of the blood cells in normal conditions, the increase of circulating CD34+ cells can be reached by means of the use of various mobilization regimens. The most performed regimen to promote the circulation of CD34+ cells involves the use hematopoietic growth factors which can be applied with or without chemotherapy. The combination of growth factor and chemotherapy results in a higher cell mobilization for the peripheral blood. The most commonly used cytokine is the Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) due to its efficacy when compared to others (GM-CSF, SCF, erythropoietin) and its relatively low toxicity profile².

The mobilization of stem cells with G-CSF and without the association of chemotherapy in cancer patients has some advantages such as the prevention of febrile neutropenia, additional transfusions and the ease to determine the collection schedule without daily determination of CD34+ cell in peripheral blood³.

This retrospective study of the mobilization and collection of PBSC for autologous transplantation had as its aim the evaluation of the results of these procedures and the identification of the profile of patients assisted in the institution mentioned.

METHODS

The study was accomplished with the review of the medical records of 176 patients who underwent mobilization and collection of PBSC for autologous transplantation in the Bone Marrow Transplantation Center (CTMO) and in the Treatment Center for Children and Adolescents with Cancer (CTCriaC) of the University Hospital of Santa Maria (HUSM) in the period between December 1996 and December 2011. The project was forwarded to the Ethics in Research Committee (CEP) of the Federal University of Santa Maria (UFSM) and approved under the number 0106.0.243.000-11.

The variables evaluated were gender, age, diagnosis, previous chemotherapy and radiotherapy treatment, mobilization regimen, leukocyte count on the onset of collection, days of the administration of G-CSF and post-mobilization chemotherapy days, number of collections, total nucleated cells quantity, quantity of CD34+ cells collected.

The mobilizations of the HSC in the bone marrow were done using different chemotherapy regimens associated to G-CSF or G-CSF alone. The G-CSF dose of 10mcg/kg was daily administered subcutaneously until the last day of collection. The minimum quantity of CD34+ cells desired was $2.0 \times 10^6/\text{kg}$.

The collections were done through apheresis and initiated when peripheral blood leukocytes achieved more than $1.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ for the patients mobilized with G-CSF plus chemotherapy. For the patients who received G-CSF alone the collections were determined according to the daily evolution of complete blood count (CBC). The procedures were carried out by the teams of the Blood Bank and the Bone Marrow Transplantation Center (CTMO) using three items of equipment: Baxter CS3000 Plus (from December 1996 to May 2001), Fresenius AS 104 (from July 2003 and April 2004) and Cobe Spectra (from July 2000 to December 2011). The solution used as anticoagulant was ACD-A. Some of the patients who did not achieve the minimum number of cells needed in the first mobilization were later remobilized, while in other patients the procedure was not repeated.

The quantity of CD34+ cells on the samples was determined by flow cytometry by the Transplantation Immunology Laboratory of Santa Casa de Misericórdia Hospital in Porto Alegre in the period between December 1996 and April 2002. From May 2002 to December 2011 the analyses were performed in the HUSM through flow cytometry with the Facs Calibur (Becton Dickinson) equipment, according to the ISHAGE (International Society for Hemotherapy and Graft Engineering) protocol. CD34-PE (phycoerythrin) and CD45-FITC

(fluorescein) fluorescent monoclonal antibodies were used for the analysis of 200.000 events in each sample.

The PBSC were cryopreserved in the Cryopreservation Laboratory of the Hematology-Oncology Service of HUSM in a cooling chamber with programmable freezing rate (Cryoson BV-6, Germany), using dimethyl sulfoxide (DMSO) as the cryoprotector agent in the concentration of 10%. The bags containing the HSC were stored in liquid nitrogen containers in the steam phase until the transplantation.

Statistical analysis

A descriptive analysis of the variables of the study was accomplished. The technical statistical analysis of data was made through the Kruskal-Wallis test. The chi-squared test was used for the nominal variables. Values of $P < 0.05$ were considered significant. The variables collected were stored in a data bank (Excel®2007) and analyzed through the *Statistical Package for Social Science* 15.0 (SPSS) program.

RESULTS

Characteristics of the population researched

The number of patients analyzed was 176, being 98 male (55.7%) and 78 female (44.3%), with age range between 01-69 years old (median, 42 years old). From the total of the patients, 41 (23.3%) belonged to a group which the age range was from 1 to 21 years old and 135 (76.7%) were adults. Regarding diagnoses, 54 patients were analyzed with Multiple Myeloma (MM – 30.7%), 47 with Hodgkin Lymphoma (HL – 26.7%), 35 with Non-Hodgkin Lymphoma (NHL – 19.9%), 16 with Acute Myeloid Leukemia (AML – 9.1%), 24 with other neoplasias (13.6%) (5 with Wilms Tumor, 3 with Testicular Tumor, 6 with Ewing's Sarcoma, 3 with Breast Cancer, 2 with Neuroblastoma, 1 with Medulloblastoma, 1 with Macroglobulinemia, 1 with Central Nervous System Tumor (CNS), 1 with Amyloidosis and 1 with PNET).

It was observed that, even though the sample had a higher percentage of males (55.7%), there were no significant differences regarding gender. In respect to age, the majority of the patients were over 21 years old (76.6%). In the evaluation of the type of diagnosis, there is a significant difference between MM (30.7%) and HL (26.7%) compared to AML (9.1%) and other neoplasias (13.6%) - ($P < 0.0001$).

All the patients had been previously submitted to treatment before the mobilization. These therapies were classified according to the main drugs used, as follows: other drugs, alkylating agents; mitoxantrone; platinum analogous; alkylating agents plus mitoxantrone, alkylating agents plus platinum analogous, mitoxantrone plus platinum analogous. Thirty-one patients (17.6%) had gone through radiotherapy previously to mobilization (Table 1).

Table1: Characteristics of the patients submitted to collection and mobilization

Variables	Frequency (N)	Percentual (%)	P-value
Gender			
Female	78	44.3	0.132
Male	98	55.7	
Total (N)	176	100	
Age			
≤ 21	41	23.3	<0.0001
>21	135	76.7	
Diagnosis			
MM	54	30.7	<0.0001
HL	47	26.7	
NHL	35	19.9	
AML	16	9.1	
Other neoplasias	24	13.6	
Previous Chemotherapy			
Other drugs	65	36.9	<0.0001
Alkylating agents	47	26.7	
Mitoxantrone	03	1.7	
Platinum analogous	04	2.3	
Alkylating plus mitoxantrone	02	1.1	
Alkylating plus platinum analogous	53	30.1	
Mitoxantrone plus platinum analogous	02	1.1	
Radiotherapy			
Yes	31	17.6	<0.0001
No	145	82.4	

Mobilization of stem cells

A number of 152 patients were mobilized once, while 24 patients were mobilized two or three times, totalizing 203 mobilizations. The mobilizations were done with the following regimens: cyclophosphamide plus G-CSF in 111 (54.1%) patients; ifosfamide, carboplatin

and etoposide (ICE) plus G-CSF in 25 (12.2%); other chemotherapy drugs related to the patient's treatment plus G-CSF in 19 (9.3%) and G-CSF alone in 48 (23.4%) patients (Table 2).

Table 2: Mobilization regimens

Mobilization Variables*	Frequency (N)	Percentual (%)	P-value
Cyclophosphamide plus G-CSF	111	54.1	<0.0001
ICE plus G-CSF	25	12.2	
Other chemotherapy drugs plus G-CSF	19	9.3	
G-CSF alone	48	23.4	

In the group analyzed, 23.4% (48) of the apheresis were done after G-CSF and 76.4% (155) after chemotherapy plus G-CSF.

When the number of total nucleated cells with the mobilization regimens adopted were compared, a higher performance was found in the regimen in which G-CSF alone was used in relation to the other regimens ($P < 0.0001$). Regarding the number of CD34+ cells obtained when the mobilization regimens were compared, a higher performance was verified among the patients who were submitted to other chemotherapy drugs related to the patient's treatment plus G-CSF, not cyclophosphamide and ICE or G-CSF alone ($P = 0.003$) (Table 3).

Table 3: Comparison of the performance with mobilization regimens.

Variables Md(1st Q-3rdQ)*	Cyclophosphamide and G-CSF (1)	ICE and G-CSF (2)	Other chemotherapy drugs and G-CSF (3)	G-CSF alone (4)	P-value
Total nucleated cells $\times 10^8/\text{kg}$	6.35 (3.95 - 8.38)	8.21 (3.98 - 14.51)	7.08 (4.79 - 12.25)	12.90 (7.44 - 17.68)	<0.0001
CD34+ cells $\times 10^6/\text{kg}$	2.84 (2.02 - 5.32)	2.44 (1.96 - 5.02)	4.46 (2.72 - 9.97)	2.19 (1.23 - 2.79)	0.003

*Md(1stQ-3rdQ) – median (1st Quartile-3rd Quartile)

Regarding the correlation of the mobilization regimens with the performance of CD34+ for MM (1 e 4), HL (1, 2, 3 e 4) e AML (1, 3 e 4), there was no statistic difference between the schemes adopted ($P = 0.240$; $P = 0.792$ and $P = 0.268$ respectively). For NHL and other neoplasias the best mobilization regimen was G-CSF plus chemotherapy drugs related to the patient's treatment (3), showing a statistic difference in relation to other schemes(1, 2 e 4), with $P = 0.009$ and $P = 0.004$ respectively.

In respect to the number of collections in relation to the mobilization regime, it was observed that there was a statistic difference between the schemes adopted ($P = 0.003$), with a

higher number of collection for the patients who used G-CSF alone (4) if compared to the schemes with G-CSF plus cyclophosphamide or ICE (1 and 2).

Collection of PBSC

A number of 474 collections were carried out with an average of 2.33/patients. The onset of the collection on patients mobilized with G-CSF alone was between days 2 and 9 (median 3 days), for the patients who were mobilized with G-CSF plus chemotherapy the collection was between days 9 and 19 post- chemotherapy (median 12 days) and after 2 and 18 days of G-CSF administration (median 4 days). The leukocytes of the first day of collection varied from 800 to 64300/ μ L (median 5500/ μ L). The performance of total nucleated cells obtained was between 0.36 and 52.96 $\times 10^8$ /kg (median 7.01), while the performance of CD34+ cells was between 0.0 and 29.86 $\times 10^6$ /kg (median 2.63) (Table 4).

Considering the 176 patients who underwent collection, 18 (10.2%) did not achieve the desired number of CD34+ cell, being 3 MM, 1 HL, 6 NHL, 4 AML, 1 Ewing's Sarcoma , 1 Testicular Tumor, 2 Wilms Tumor.

Four patients were mobilized another time and did not achieve the minimum number of CD34+ cells (1 MM, 1 AML e 2 NHL), while 14 patients were not mobilized again for presenting insufficient CD34+ cells count.

Table 4: Data collected from PBSC

Collection variables	N	Average	Standard Deviation	Median	Minimum	Maximum
G-CFS + chemotherapy days	155	4.78	2.56	4.00	2.00	18
G-CFS alone days	48	3.58	1.13	3.00	2.00	9
Post-chemotherapy days	155	12.29	1.69	12.00	9	19
N° of collections	203	2.33	1.10	2	1	6
Leukocytes collection onset/ μ L	203	12682.02	15180.50	5500	800	64300
Cells total N° (10^8 /kg)	203	9.16	6.68	7.01	0.36	52.96
CD34 total N° (10^6 /kg)	183	4.13	4.55	2.63	0.00	29.86

When the number of collections needed to achieve the minimum quantity of CD34+ cells was compared with the diagnoses, a difference between MM and HL (P=0.004) was found. For the variable number of leukocytes from the onset of the collection, a difference between AML diagnosis and other neoplasias with MM, which have the lowest median (P<0.0001), was found. The number of total nucleated cells obtained in the diagnoses MM, HL and NHL demonstrates significant difference in relation to the AML diagnoses and other neoplasias which presented higher performance (P=0.001). Regarding the number of CD34+

cells obtained, the difference between MM diagnoses and others with a higher performance in MM (P=0.047) was demonstrated (Table 5).

Table 5: Comparison between the collection and diagnoses variables.

Variables	MM	LH	NHL	AML	Other neoplasias	P-value
Md(1°Q-3°Q)*						
N° of collections	2.00 (1.00-2.00)	3.00 (2.00-3.00)	2.00 (2.00-3.00)	2.00 (2.00-3.00)	2.50 (1.25-3.00)	0.004
Leukocytes in the beginning of collection/ μ L	3450 (1550-8200)	4700 (2300-10300)	3400 (1800 -8300)	11650 (3650-38350)	14350 (5625-29675)	<0.0001
Total nucleated cells $\times 10^8$ /kg	5.76 (3.19 -7.80)	8.07 (4.74 -11.11)	6.85 (4.79 -13.29)	7.20 (5.49 -13.48)	12.21 (6.73 -17.92)	0.001
CD34+ cells $\times 10^6$ /kg	3.99 (2.71 -6.31)	2.63 (1.97 -4.57)	2.40 (1.59 -4.02)	2.59 (1.43 -5.17)	2.42 (2.04 -5.43)	0.047

*Md (1stQ-3rdQ) – median (1st Quartile-3rd Quartile)

The influence of gender in the performance of total nucleated cells (P=0.327) and CD34+ cells obtained in the collections (P=0.415) was not observed. However, a significant difference was found on the performance of total nucleated cells in relation to the patient's age, noting that those who were ≤ 21 years old obtained a higher performance (P=0.005).

It was verified that there was no influence of radiotherapy on the collections regarding the performance of total nucleated and CD34+ cells (P=0.208 and P=0.269).

In the analysis which compares the previous chemotherapy regimens with the number of total nucleated cells an average of lower performance was found in the patients who were submitted to alkylating agents plus mitoxantrone (4) and mitoxantrone plus platinum derivatives (6) in relation to the group of patients who were submitted to platinum derivatives alone (3) – P=0.021. The patients submitted to alkylating agents (1) also obtained an average performance of total nucleated cells higher than those in the group submitted to alkylating agents plus mitoxantrone (4), while in relation to the performance of CD34+ cells there was no difference between the groups (P=0.086) (Table 6).

Table 6: Previous chemotherapies

Variables:*	0	1	2	3	4	5	6	P-value
Md(1stQ-3rdQ)								
Total nucleated cells $\times 10^8$ /kg	6.4 (3.5-9.0)	10.1 (6.2-13.8)	6.9 (5.7-12.8)	10.4 (5.9-16.3)	2.3 (0.9-3.6)	6.8 (4.5-15.6)	5.6 (4.4-6.8)	0.021
CD34+ cells $\times 10^6$ /kg	3.4 (2.3-5.3)	2.8 (1.9-6.7)	4.5 (1.6-7.3)	7.8 (1.6-12.2)	5.3 (5.3 -5.3)	2.4 (1.9-3.9)	1.4 (0.4 -2.4)	0.086

*0- other drugs, 1- alkylating agents, 2- mitoxantrone, 3- platinum analogous, 4- alkylating agents plus mitoxantrone, 5- alkylating agents plus platinum analogous, 6- mitoxantrone plus platinum analogous

The daily performance of the cells collected from patients was only evaluated until the third day since most of the collections were concentrated in this period of time. It was observed that there was a significant difference between the diagnoses only for CD34+ x10⁶/kg cells D1 (first day of the collection). This difference was found in the MM diagnosis, which has the highest average of performance in this variable and differs from NHL and HL which have the lowest average respectively (P=0.013). The other diagnoses do not differ from the lowest neither from the highest average. For the other variables of daily performance there was no difference between the diagnoses.

It was observed that the average performance of CD34+x10⁶/kg cells on D1 was higher in relation to the performance in D3 (third day of collection) in most of the diagnoses (Table 7).

Table 7: Daily performance of total nucleated cells x10⁸/kg (TNC) and CD34+x10⁶/kg cells

Variables average(SD)*	MM	HL	NHL	AML	Other neoplasias	P-value
TNC/ D1*	3.25 (2.42)	3.57 (2.74)	3.05 (2.12)	4.12 (2.23)	5.36 (5.13)	0.089
CD34+/ D1	3.45 (4.11)	1.58 (2.16)	1.48 (1.91)	2.00 (2.68)	2.56 (5.38)	0.013
TNC/ D2	3.72 (2.28)	4.29 (2.71)	3.85 (1.92)	3.78 (1.38)	6.35 (5.68)	0.463
CD34+/ D2	2.32 (2.29)	1.75 (1.81)	1.32 (1.75)	1.30 (1.47)	2.23 (3.73)	0.232
TNC/ D3	3.39 (2.23)	3.94 (2.34)	3.72 (2.12)	4.46 (1.94)	4.32 (2.63)	0.756
CD34+/ D3	1.50 (1.91)	1.47 (1.94)	0.60 (0.47)	0.72 (0.40)	1.47 (2.78)	0.591

*D1- first day of collection; D2- second day of collection; D3- third day of collection; SD – standard deviation

DISCUSSION

The HSC mobilized for peripheral blood have been more frequently used for transplantation with well-established advantages over those of bone marrow^{3,4}. This study includes a group of patients which is very heterogeneous regarding initial diagnosis, age and chemotherapy regimens used before the mobilizations and collections. Thus, the analysis of the results obtained was done considering these variables and the limitation they impose on comparisons.

The onset of collections in this group was based on the recovery of the patients' leukocytes after the use of G-CSF or G-CSF plus different chemotherapy regimens, demonstrating that it is possible to perform this procedure without a previous determination of the number of CD34+ cells on peripheral blood. CD34+ cell count is a better marker for cell performance in leukapheresis than the peripheral blood leukocytes count, being recommended to determine the time of collection and to monitor the quality of the product reinfused in the patient. Determining the ideal time to start the collection of HSC after a mobilization is fundamental in order to have a good performance. There are still many controversies regarding the onset of the apheresis procedure⁵.

The most common strategies for mobilization include growth factors and post-chemotherapy growth only. Nevertheless, the issue of which is the safest and most predictable method for mobilization of HSC is still controversial^{6,7}. In this study a higher performance of total nucleated cells in patients that were mobilized with G-CSF alone was observed, nonetheless the performance of CD34+ cells was higher when G-CSF plus chemotherapy was administered. A combination of growth factors and chemotherapy results in an added effect with a higher mobilization of stem cells for peripheral blood^{4,8}. For the patients who were mobilized with chemotherapy drugs related to the patient's treatment associated to G-CSF a superior performance of CD34+ cells was obtained if compared to the other schemes performed. According to Bensinger et al the mobilization with chemotherapy drugs related to the patient's treatment plus G-CSF are regimens frequently well-succeeded⁶. The mobilization regimen with high doses of cyclophosphamide associated to hematopoietic growth factors was used in 54.1% of the patients included in this study. The administration of cyclophosphamide plus G-CSF is widespread performed as an effective regimen for mobilization of HSC and highly efficient against tumor cells⁶.

In this study, it was verified that there is no influence of gender, age, previous radiotherapy in the performance of CD34+ cells. In different studies, the effect of the patient's age on the amount of CD34+ cells obtained was analyzed and has shown to be contradictory^{9,10}. With regard to previous chemotherapies, its influence on the performance of CD34+ cells was not observed, except for a lower performance on the number of total nucleated cell of the patients that were submitted to mitoxantrone plus alkylating agents and or platinum derivatives, being this variable difficult to measure due to the great number of chemotherapy agents used in different doses and combinations. In a study Haas et al highlighted that previous chemotherapy and radiotherapy are important adverse factors for the efficiency of collection¹¹. Mendrone Jr. reported unsuccessful mobilizations of patients with

previous administration of mitoxantrone or alkylating agents. For patients with previous administration of platinum derivatives and radiotherapy there was no significant influence on the mobilization¹².

The evaluation of the daily performance of CD34+ cells showed a superior average performance on the first day in relation to the third day. The increase of stem cells on peripheral blood resulting from the process of mobilization is of short-term, thus requiring a definition of the ideal period for apheresis¹³. Bini-Antunes et al also demonstrated, having as reference a group of pediatric patient, a higher performance of CD34+ cells on the first day of collection¹⁴.

In this study a flaw in the mobilization of 10.2% (18/176) of the patients was evidenced, while the desired dose of HSC was achieved by 89.8% (158/176) of the patients. Among the patients who undergo mobilization 5% to 46% fail to achieve the pre-determined dose of HSC and are considered poor mobilizers. Age, gender, diagnosis and stage of the disease, bone marrow involvement, previous radiotherapy, time of diagnosis, time between the last chemotherapy and the mobilization regimen, alkylating agents, fever of unknown origin, dose and administration of growth factor have been considered factors that are likely to determine negative prognosis in different patients^{15,16}. It was observed that patients with MM in this analysis were submitted to a smaller number of collections and also obtained a higher number of CD34+ cells in relation to patients with other diagnosis. In general the performance of collections is higher in patients with MM¹⁷.

Considering the patients with NHL analyzed in this study, it was verified that 33.3% (6/18) of them failed to achieve the desired number of CD34+ cells. Patients with NHL specially those with bone marrow involvement, are more frequently “bad” mobilizers¹⁸. Around 21 to 48% of the patients with NHL were shown to be poor mobilizers after the administration of chemotherapy plus G-CSF and, among these patients, 16 to 33% did not mobilize a sufficient number of stem cells for the collection and transplantation^{19,20}.

For the patients with AML in the group evaluated, 22.2% (4/18) did not achieve the desired number of stem cells in the collections. Acute Leukemia has already been associated with a low performance of PBSC compared to other malign hematologic diseases²¹.

In this study the median of total nucleated cells obtained at the end of collections was 7.01×10^8 /kg, while for CD34+ cells it was 2.63×10^6 /kg having as a median two apheresis procedures per patient. The number of collections necessary per apheresis in order to obtain enough quantity of peripheral blood stem cells depends on the type of the initial disease, the clinical conditions of each patient, the type of chemotherapy, the pre-collection count

(peripheral blood CD34), the administration of growth factor, the ideal time of apheresis, vascular access, the technique and the type of instruments used. Therefore, the result and quality of the product obtained can be totally different depending, not only on the equipment used, but on the clinical conditions of patients²².

CONCLUSION

Through this study it was concluded that factors such as diagnosis, previous chemotherapy and radiotherapy, regimen of mobilization, leukocytes count in the beginning of the collection, the days of G-CSF administration and the post-chemotherapy days of mobilization should be observed in order to have a successful collection, considering also that each patient should be evaluated individually according with his/her own disease. It was also verified that 89.8% of the patients studied achieved the expected dose of CD34+ cells after the mobilizations and collections.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful all colleagues of the Department of Hematology Oncology, the Bone Marrow Transplantation Center, the Treatment Center for Children and Adolescents with Cancer and the Blood Bank of the University Hospital of Santa Maria.

BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

1. Silva Junior FC, Odongo FCA, Dulley FL. Hematopoietic stem cells: uses and perspectives. (Células-tronco hematopoiéticas: utilidades e perspectivas). Rev Bras Hematol Hemoter. 2009; 31 suppl. 1: 53-8.
2. Rowley SD. Practical Aspects of Stem Cell Collection. In R Hoffman, EJ Benz Jr., SJ Shattil, B Furie, HJ Cohen, LE Silbertein, P McGlave. Hematology - Basic Principles and Practice. New York: Churchill Livingstone; 2000. p.1642-58.
3. Watanabe H, Watanabe T, Suzuya H, Wakata Y, Kaneko M, Onishi T, et al. Peripheral blood stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor alone and engraftment kinetics following autologous transplantation in children and adolescents with solid tumor. Bone Marrow Transplant. 2006; 37 (7): 661-8.
4. Reddy RL. Mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells for transplantation. Transfus Apher Sci. 2005; 32 (1) 63-72.

5. Fontão-Wendel R, Lazar A, Melges S, Altobeli C, Wendel S. The absolute number of circulating CD34+ cells as the best predictor of peripheral hematopoietic stem cell yield. *J Hematother.* 1999; 8(3): 255-62.
6. Bensinger W, Dipersio JF, McCarty JM. Improving stem cell mobilization strategies: future directions. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 43 (3): 181-95.
7. Takeyama K, Ohto H. PBSC mobilization. *Transfus Apher Sci.* 2004; 31: 233-43.
8. Fu S, Liesveld J. Mobilization of hematopoietics stem cells. *Blood Rev.* 2000; 14 (4): 205-18.
9. Han X, Ma L, Zhao L, He X, Liu P, Zhou S, et al. Predictive factors for inadequate stem cell mobilization in Chinese patients with NHL and HL: 14-year experience of a single-center study. *J Clin Apher.* 2012; 27 (2): 64-74.
10. Sakashita AM, Kondo AT, Ribeiro AAF, Cipolletta ANF, Colesanti MV, Hamerschlak N, et al. Factors that affect the collection of hematopoietic peripheral blood stem cells through great volume leukapheresis: experience of one center alone. (Fatores que afetam a coleta de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico por leucoaférese de grande volume: experiência de um único centro). *Einstein.* 2011; 9 (2) 196-200.
11. Haas R, Mohle R, Fruhauf S, Goldschmidt H, Witt B, Flentje M, et al. Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. *Blood.* 1994; 83 (12): 3787-94.
12. Mendrone Jr, A. Collection of peripheral blood hematopoietic progenitor cells after the administration of cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): an analysis of 307 patients (Coleta de células progenitoras hematopoiéticas de sangue periférico após administração de ciclofosfamida e fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF): uma análise de 307 pacientes [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007. 163p.
13. Souza CA, Marques Junior JFC, Bouzas LFS. Sources, Mobilization and Collection of Hematopoietic Stem Cell for Transplantation (Fontes, Mobilização e Coleta de Células-Tronco Hematopoiéticas para Transplante). In JC Voltarelli, R Pasquini, ETT Ortega. *Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas.* São Paulo: Editora Atheneu; 2009; p. 565-88.
14. Bini-Antunes M, Roncon S, Campilho F, Barbosa I, Leal H, Ávila A, et al. Collection of peripheral hematopoietic progenitor cells in pediatric patients. (Coleta de células progenitoras hematopoiéticas periféricas em doentes pediátricos). *Arqui Med.* 2006; 20 (1/2): 25-29.
15. Ikeda K, Kozuka T, Harada M. Factors for PBPC collection efficiency and collection predictors. *Transfus Apher Sci.* 2004; 31 (3): 245-59.
16. Perseghin P, Terruzzi E, Dassi M, Baldini V, Parma M, Coluccia P, et al. Management of poor peripheral blood stem cell mobilization: incidence, predictive factors, alternative strategies and outcome. A retrospective analysis of 2177 patients from three major Italian institutions. *Transfus Apher Sci.* 2009; 41 (1) 33-7.

17. Perea G, Sureda A, Martino R, Altes A, Martinez C, Cabezudo E, et al. Predictive factors for a successful mobilization of peripheral blood CD34+ cells in multiple myeloma. *Ann Hematol.* 2001; 80: 592-7.
18. Delamain MT, Metze K, Marques Jr JFC, Reis ARC, De Souza CA, Lorand-Metze I. Optimization of CD34+ collection for autologous transplantation using the evolution of peripheral blood cell counts after mobilization with chemotherapy and G-CSF. *Transfus Apher Sci.* 2006; 34: 33-40.
19. Perry AR, Watts MJ, Peniket AH, Goldstone AH, Linch DC. Progenitor cell yields are frequently poor in patients with histologically indolent lymphomas especially when mobilized within 6 months of previous chemotherapy. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 21: 1201-5.
20. Sugrue MW, Williams K, Pollok BH, Khan SA, Peracha S, Wingard JR, et al. Characterization and outcome of 'hard to mobilize' lymphoma patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma.* 2000; 39: 509-19.
21. Pastore D, Specchia G, Mestice A, Liso A, Pannunzio A, Carluccio P, et al. Good and poor CD34+ cells mobilization in acute leukemia: analysis of factors affecting the yield of progenitor cells. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 33 (11): 1083-7.
22. Valbonesi M. Hemopoietic stem cells: technical and methodological considerations. *Stem cells.* 1993; 11 (suppl. 3): 58-63.

MANUSCRITO 1 – A ser submetido.

TRANSPLANTE AUTOGÊNICO DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO, MORTALIDADE RELACIONADA AO TRANSPLANTE E SOBREVIDA GLOBAL DOS PACIENTES ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA

RESUMO

Objetivo: Identificar as características clínicas dos pacientes transplantados na instituição e avaliar os resultados obtidos com a infusão de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico (CTHSP), a mortalidade relacionada ao transplante (MRT) e a sobrevida global (SG).

Métodos: Através da revisão e avaliação retrospectiva dos prontuários dos 120 pacientes submetidos a transplante autogênico no período de dezembro de 1996 a dezembro de 2011.

Resultados: Foram tratados 120 pacientes com infusões de CTHSP, sendo 78,3% adultos, com mediana de idade de 47 anos e predomínio do sexo masculino. Os diagnósticos foram 32,5% para Mieloma Múltiplo (MM), 35,8% para Linfoma de Hodgkin (LH), 16,7% para Linfoma não Hodgkin (LNH) 4,2% para Leucemia Mielóide Aguda (LMA) e 10,8% para outras neoplasias como Tumor de Wilms, Câncer de Mama, Neuroblastoma, Sarcoma de Ewing, Tumor de Testículo, Meduloblastoma, Macroglobulinemia, Amiloidose e Tumor de SNC. A mediana do número de células nucleadas totais infundidas foi de $6,46 \times 10^8$ /kg e a de células CD34+ foi de $3,17 \times 10^6$ /kg. A mediana de tempo para recuperação de neutrófilos foi de 10 dias e para plaquetas de 12 dias. Foi encontrada uma correlação entre a quantidade de células CD34+ infundidas e a recuperação de neutrófilos e plaquetas. Para o grupo em geral a MRT encontrada foi de 5% e a probabilidade de SG em cinco anos de 55,1%. Conclusão: Os resultados obtidos com os transplantes autogênicos em nossa instituição são semelhantes aos descritos na literatura, sendo este procedimento uma alternativa terapêutica para pacientes com recaída de doença ou refratários ao tratamento.

Palavras-chave: Célula-tronco de sangue periférico, transplante, mortalidade relacionada ao transplante, sobrevida global.

ABSTRACT

Objective: Identify the clinical characteristics of patients who underwent transplantation in the University Hospital of Santa Maria (HUSM) and evaluate the results obtained with infusion of peripheral blood hematopoietic stem cells (PBSC), transplant-related mortality (TRM) and overall survival (OS).

Methods: Review and evaluation of retrospective medical records of 120 patients who underwent autologous transplantation in the period between December 1996 and December 2011.

Results: One hundred and twenty patients were treated with PBSC infusion, being 78.3% adults, predominantly men, with median age 47 years. The diagnoses were: 32.5% for Multiple Myeloma (MM), 35.8% for Hodgkin Lymphoma (HL), 16.7% for Non Hodgkin (NHL) 4.2% for Acute Myeloid Leukemia (AML), and 10.8% for other neoplasias such as Wilms Tumor, Breast Cancer, Neuroblastoma, Ewing's Sarcoma, Testicular Tumor, Medulloblastoma, Macroglobulinemia, Amyloidosis and Central Nervous System Tumor (CNS). The median number of total nucleated cells infused was $6.46 \times 10^8/\text{kg}$ and for CD34+ cells it was $3.17 \times 10^6/\text{kg}$. The median time for the recovery of neutrophils and platelets was 10 and 12 days respectively. It was found that there was a correlation between the quantity of CD34+ cells infused and the recovery of neutrophils and platelets. For the group as a whole, the TRM found was of 5% e and the probability of OS in five years was of 55.1%.

Conclusion: The results obtained with the autologous transplantations in Univerity Hospital of Santa Maria were similar to those described in the literature, being this a therapeutic procedure for patients who experience relapse or resist to the treatment.

Key words: Peripheral blood stem cells, transplantation, transplant-related mortality, overall survival.

INTRODUÇÃO

O transplante de medula óssea pode ser indicado como componente do tratamento dos

linfomas e leucemias e algumas condições não-malignas como as imunodeficiências congênitas¹. É um procedimento terapêutico que tem se tornado mais frequente no tratamento de várias doenças de natureza hematológica e outras, tendo como fontes de células-tronco a medula óssea, o sangue periférico e o sangue de cordão umbilical. As vantagens do uso de células-tronco de sangue periférico sobre o uso de células da medula óssea incluem uma recuperação hematopoiética mais rápida, com redução do número de transfusões de plaquetas e glóbulos vermelhos, redução do período de antibioticoterapia, e a ausência da necessidade de anestesia geral e emprego de técnicas invasivas, como na coleta da medula óssea em centro cirúrgico^{2,3}.

Estima-se que a cada ano sejam realizados no mundo entre 50 e 60 mil transplantes de medula óssea. Considerando-se apenas os transplantes autogênicos, o sangue periférico é utilizado em 90% dos casos. Após a quimioterapia de mobilização, as CTH são colhidas e podem ser mantidas criopreservadas por vários anos, até o momento do transplante⁴. A dose mínima de células CD34+/kg necessária para a restauração da hematopoese não está definida, porém muitos centros consideram ao menos $2,0-2,5 \times 10^6$ /kg como um número aceitável⁵.

O prognóstico dos pacientes transplantados autogênicos e alogênicos vem melhorando nas últimas décadas em consequência da melhoria no tratamento de suporte, e com isso há redução da mortalidade relativa ao procedimento. Apesar disso, a mais importante causa de falha do tratamento permanece sendo a recidiva da doença maligna⁴.

O objetivo deste estudo foi avaliar a infusão de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico (CTHSP), mortalidade relacionada ao transplante (MRT) e sobrevida global (SG), bem como conhecer as características da população atendida no Centro de Transplante de Medula Óssea (CTMO) e Centro de Tratamento da Criança e Adolescente com Câncer (CTCriaC) do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM).

MÉTODOS

Foram revisados e analisados retrospectivamente os prontuários de 120 pacientes submetidos a transplante autogênico, atendidos no CTMO e CTCriaC do Serviço de Hematologia-Oncologia do HUSM, no período de dezembro de 1996 a dezembro de 2011. As variáveis avaliadas foram sexo, idade, diagnóstico, quantidade de células nucleadas totais e células CD34+ infundidas, dias de enxertamento de neutrófilos e plaquetas, MRT e SG.

Após o condicionamento com quimioterapia em altas doses, as CTHSP previamente coletadas e criopreservadas foram descongeladas e infundidas imediatamente. Este dia foi

definido como dia zero (D0) do transplante. Para realização do transplante autogênico considerou-se o número ideal de células CD34+ de $2,0 \times 10^6/\text{kg}$.

O dia de pega medular foi considerado quando a contagem absoluta de neutrófilos atingiu $\geq 500/\mu\text{L}$ no sangue periférico por dois dias consecutivos e a contagem de plaquetas superior a $20.000/\mu\text{L}$ por uma semana, sem necessidade de suporte transfusional.

Na taxa de mortalidade relacionada ao transplante foram incluídos todos os pacientes que foram a óbito até o dia +100 pós-TMO independente da causa. Para a taxa de sobrevida global foram considerados todos os pacientes vivos em 31 de dezembro de 2011, independente de recidiva da doença de base ou outras intercorrências.

Análise Estatística

Foi realizada uma análise descritiva das variáveis do estudo, enquanto que para análise técnica estatística dos dados foi efetuado o teste de Kruskal-Wallis. Para as variáveis nominais foi usado o teste do qui-quadrado e para análise de correlação foi adotada a Correlação de Spearman. As curvas de sobrevida foram feitas utilizando o método de Kaplan-Mayer, os grupos comparados pelo teste de log-rank. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos. As variáveis coletadas foram armazenadas em um banco de dados (Excel®2007) e analisadas pelo programa *Statistical Package for Social Science* 15.0 (SPSS).

RESULTADOS

Características da população

Foram tratados 120 pacientes com transplante autogênico de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico (TACTHSP), sendo que três pacientes foram submetidos a dois procedimentos, totalizando 123 infusões. Quarenta e nove (40,8%) eram do sexo feminino e 71 (59,2%) do sexo masculino, sendo 78,3% dos pacientes adultos (mediana 47 anos). A casuística consta de 39 pacientes com Mieloma Múltiplo (MM - 32,5%), 43 com Linfoma de Hodgkin (DH - 35,8%), 20 com Linfoma não Hodgkin (LNH - 16,7%), 5 com Leucemia Mielóide Aguda (LMA - 4,2%), 13 com outras neoplasias (10,8% - 2 Tumor de Wilms, 1 Tumor de Testículo, 3 Sarcoma de Ewing, 2 Câncer de Mama, 1 Neuroblastoma, 1 Meduloblastoma, 1 Macroglobulinemia, 1 Tumor de Sistema Nervoso Central (SNC), 1 Amiloidose) (Tabela 1).

Tabela 1: Características dos pacientes transplantados

Variáveis	Frequência (N)	Percentual (%)	P-valor
Sexo			
Feminino	49	40,8	0,045
Masculino	71	59,2	
Total	120	100	
Idade			
≤ 21	26	21,7	<0,0001
>21	94	78,3	
Diagnóstico			
MM	39	32,5	<0,0001
LH	43	35,8	
LNH	20	16,7	
LMA	5	4,2	
Outras Neoplasias	13	10,8	

Infusão de CTHSP

A quantidade mínima de células nucleadas totais infundidas foi de $0,55 \times 10^8/\text{kg}$ e a máxima de $52,96 \times 10^8/\text{kg}$ (mediana $6,46 \times 10^8/\text{kg}$). Quanto as células CD34+ infundidas, o número mínimo foi de $1,35 \times 10^6/\text{kg}$ e o máximo de $23,94 \times 10^6/\text{kg}$ (mediana $3,17 \times 10^6/\text{kg}$) (Tabela 2). Quanto aos diagnósticos, as quantidades mínimas e máximas de células CD34+ infundidas foram: para MM 1,98 e $13,78 \times 10^6/\text{kg}$; para LH 1,49 e $6,90 \times 10^6/\text{kg}$; para LNH 1,72 e $5,45 \times 10^6/\text{kg}$; para LMA 1,35 e $10,81 \times 10^6/\text{kg}$; e outras neoplasias 1,97 e $23,94 \times 10^6/\text{kg}$ respectivamente.

Tabela 2: Quantidade de células infundidas

Variáveis de transplante	N	Média	DP*	Mediana	Mínimo	Máximo
CNT infundidas ($10^8/\text{kg}$)*	123	8,85	7,66	6,46	0,55	52,96
Células CD34+ infundidas ($10^6/\text{kg}$)	117	4,10	2,94	3,17	1,35	23,94

*CNT- células nucleadas totais; DP – desvio padrão

A mediana de tempo entre o diagnóstico e a realização do transplante observada de acordo com a doença de base foi estatisticamente menor para MM em relação aos outros grupos (P=0,022) (Tabela 3).

Tabela 3: Tempo entre o diagnóstico da doença e a realização do transplante (em dias)

Mediana (1°Q -3°Q)*	MM	LH	LNH	LMA	Outras neoplasias	P-valor
Tempo de diagnóstico	434,50 (317,00-998,00)	892,00 (524,00-1569,00)	563,00 (311,75-1188,00)	888,00 (375,00-2933,00)	705,00 (379,50-1912,00)	0,022

*(1°Q - 3°Q) - 1° Quartil - 3° Quartil

A mediana de tempo entre a coleta e o transplante, ou seja, o período de armazenamento das CTH em nitrogênio líquido, na fase vapor, foi de 81 dias (9 a 2738 dias).

Recuperação Medular Pós-TMO

A mediana para recuperação de neutrófilos foi de 10 dias (7 a 28 dias) e a mediana para recuperação das plaquetas foi de 12 dias (8 a 79 dias). Em três pacientes não houve o enxertamento das plaquetas, sendo um com LMA e dois com LNH (Tabela 4).

Tabela 4: Recuperação de neutrófilos e plaquetas

Variáveis de transplante	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Recuperação dos neutrófilos dia+	119	11,15	2,74	10,00	7	28
Recuperação das plaquetas dia+	117	14,04	8,49	12,00	8	79

Para a variável dias de recuperação de neutrófilos a diferença estatística encontrada foi entre LMA e os demais diagnósticos (P=0,001). A recuperação de neutrófilos no MM foi entre os dias 9 e 18 (média 11,27 dias), para LH entre os dias 8 e 20 (10,26), para LNH entre os dias 9 e 18 (11,25), para LMA entre os dias 10 e 28 (17) e para outras neoplasias entre os dias 7 e 17 (11,27). A recuperação plaquetária ocorreu entre os dias 9 e 26 (média 12,37 dias) para MM, entre os dias 9 e 21 (12,48) para LH, entre os dias 9 e 21 (14,28) para LNH, entre os dias 9 e 79 (43) para LMA e entre os dias 8 e 32 (16,64 dias) para outras neoplasias (Tabela 5).

Tabela 5: Comparação entre as variáveis do transplante e diagnósticos

Variáveis Média (DP)	MM	LH	LNH	LMA	Outras neoplasias	P-valor
CNT infundidas (10 ⁸ /kg)	6,03 (5,97)	9,55 (6,78)	9,42 (5,66)	9,09 (9,67)	14,66 (12,88)	0,001
Células CD34+ infundidas (10 ⁶ /kg)	4,33 (2,43)	3,68 (2,19)	3,20 (1,13)	4,88 (4,29)	5,84 (6,14)	0,297
Recuperação neutrófilos dia+	11,27 (1,72)	10,26 (1,90)	11,25 (2,53)	17,00 (6,86)	11,27 (3,23)	0,001
Recuperação plaquetas dia+	12,37 (2,92)	12,48 (3,00)	14,28 (4,23)	43,00(30,80)	16,64 (8,07)	0,099

CNT- células nucleadas totais, DP- desvio-padrão

Através de correlação de Spearmann foi observado uma correlação fraca negativa entre as quantidades de células CD34+ infundidas e a enxertia de neutrófilos (-0,299 e P=0,001) e de plaquetas (-0,194 e P=0,041), ou seja, quanto maior o número de células CD34+ infundidas, menor o tempo de enxertia de neutrófilos e plaquetas. Entre a quantidade de células nucleadas totais infundidas e a enxertia de neutrófilos e de plaquetas foi encontrada uma correlação fraca positiva (0,184 com P=0,045 e 0,263 com P=0,004 respectivamente).

Mortalidade Relacionada ao Transplante e Sobrevida Global

A mortalidade relacionada ao transplante encontrada no grupo foi de 5% (6/120) – 1 MM, 2 LH, 3 outras neoplasias (1 Amiloidose, 1 Tumor de Wilms, 1 Neuroblastoma). Quando separado por doença, a MRT foi 2,5% para MM, 2,3% para LH e 23% para o grupo outras neoplasias. Para LNH e LMA não houve registro de MRT.

Para o grupo de pacientes analisados neste estudo foi observado um tempo mediano de SG de aproximadamente 7,74 anos com erro padrão igual 2,041. Em um ano, a probabilidade de sobrevivência foi 79,8% com erro padrão de 0,038. Em cinco anos, 55,1% com 0,051 de erro padrão (Figura 1).

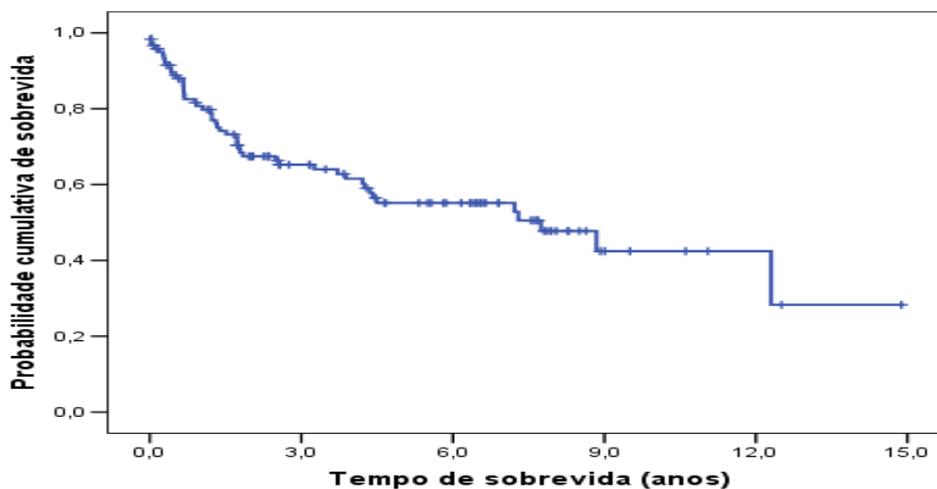


Figura 1 – Probabilidade de sobrevida global dos 120 pacientes transplantados no período de dezembro de 1996 a dezembro de 2011 no HUSM.

A SG por diagnóstico encontrada foi:

I- Para o grupo de pacientes com MM (N 39) foi observado o tempo mediano de SG de aproximadamente 7,2 anos (8 - 144 meses) com erro padrão igual 0,57. Em um ano a probabilidade de SG foi de 94,7%, com erro padrão de 0,036; em cinco anos, a probabilidade de sobrevivência foi 67,1% com erro padrão de 0,088.

II- Para o grupo de pacientes com LH (N 43) foi encontrado o tempo mediano de sobrevida de aproximadamente de 5,57 anos (2 - 180 meses) com erro padrão igual 0,85. Em um ano a probabilidade foi 81,6% com erro padrão de 0,063. Em cinco anos, a probabilidade de sobrevivência foi 55,7% com erro padrão de 0,85.

III- Para o grupo de pacientes com LNH (N 20) analisados foi observado que o tempo mediano de SG de aproximadamente de 2,56 anos (3 – 113 meses) com erro padrão igual 2,26. Em um ano foi encontrado 69,6% com erro padrão de 0,104. Em cinco anos, a probabilidade de sobrevivência foi 45,5% com erro padrão de 0,121.

IV- Para o grupo de pacientes com LMA (N 5) analisados foi observado que o tempo mediano de SG de aproximadamente de 1,2 anos (4 – 108 meses) com erro padrão igual 0,87. Em um ano, a probabilidade de sobrevivência foi 60% com erro padrão de 0,219.

V- para o grupo de pacientes analisados com outras neoplasias (N 13) foi observado que o tempo mediano de SG de aproximadamente de 4,36 anos (2 – 83 meses) com erro padrão igual 2,59. Em um ano, a probabilidade de sobrevivência foi 61,5% com erro padrão de 0,135. Em cinco anos 38,5%, com 0,156 de erro padrão.

Quanto à SG dos pacientes transplantados não foi encontrada diferença estatística entre os diagnósticos ($P=0,811$) (Figura 2).

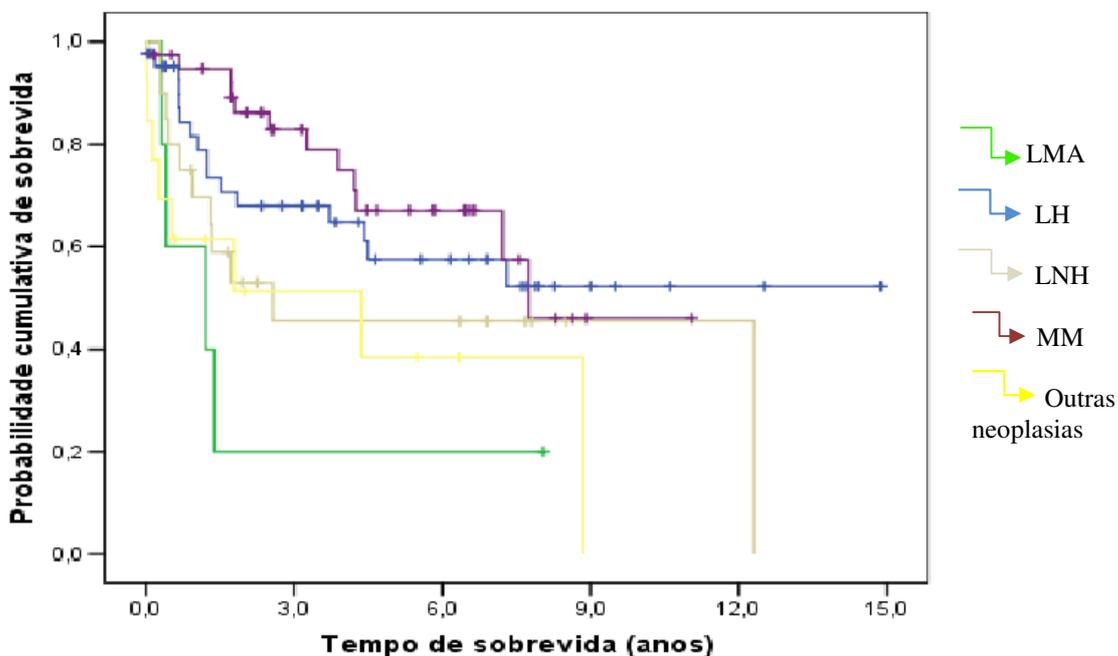


Figura 2 – Probabilidade de sobrevida global de acordo com os diagnósticos dos 120 pacientes transplantados no período de dezembro de 1996 a dezembro de 2011 no HUSM.

DISCUSSÃO

A CTH é capaz de reconstituir a função da medula óssea depois da irradiação letal. Esta sustentada reconstituição hematopoiética após transplante é referida como enxertamento⁶. No TCTH o fator mais confiável para prever a recuperação hematológica é a dose de células CD34+ do produto infundido⁷.

Nesta análise a mediana de células CD34+ infundidas nos pacientes após o condicionamento foi de $3,17 \times 10^6$ /kg. Embora $5,0 \times 10^6$ células CD34+/kg seja o ideal na mobilização, transplantes bem sucedidos com um mínimo de $1,0 \times 10^6$ células CD34+/kg tem sido relatados e muitos centros efetuam transplantes com sucesso no enxertamento com $2,0 \times 10^6$ células CD34+/kg⁸. De acordo com Kessinger e Sharp, 2003, o mínimo de $1,0 \times 10^6$ células CD34+/kg é necessário para garantir a recuperação hematopoiética após transplante, com doses maiores proporcionando uma recuperação mais rápida das plaquetas⁹. Também Massumoto, et al, 1996, concluiu em um estudo que o rendimento de células CD34+ superior a $1,0 \times 10^6$ /kg já é capaz de produzir rápida recuperação da função medular¹⁰.

Após a infusão das CTH a mediana de dias para a recuperação de neutrófilos foi de 10 dias, enquanto para as plaquetas foi de 12 dias, similar a encontrado em outros estudos^{11,12}. Neste estudo foi encontrada correlação entre o número de células CD34+ infundidas e o tempo de enxertia de neutrófilos e plaquetas, também já relatada em outros trabalhos^{7,13,14}.

Nove pacientes (9,2%) do grupo receberam infusão em número inferior à dose de células CD34+ desejada de $2,0 \times 10^6$ /kg (doses entre $1,35$ a $1,98 \times 10^6$ /kg), sendo que em dois deles houve atraso na recuperação de plaquetas (32 e 79 dias). No grupo de pacientes transplantados, três pacientes não enxertaram as plaquetas, sendo um com LMA e dois com LNH, com infusões de $2,09$, $2,81$ e $2,35 \times 10^6$ /kg células CD34+ respectivamente, o que sugere má qualidade das CTHSP ou células-tronco comprometidas pelo uso de drogas ao longo do tratamento do paciente ou, ainda, a agentes antivirais usados após a sua infusão¹⁵. O sucesso do enxertamento é determinado não somente pela quantidade, mas também pela qualidade das células-tronco de sangue periférico mobilizadas⁸.

Um importante parâmetro para avaliar a toxicidade do transplante é a mortalidade até o dia +100 pós-TMO. Entre os 120 pacientes transplantados encontramos 5% de óbitos, que é semelhante ao descrito na literatura¹⁶. Em um estudo europeu com 1482 pacientes transplantados, a MRT foi 2,8%¹⁷. Castro Jr. et al, 2003, encontrou 9,5% em um grupo de 21 pacientes pediátricos com diferentes diagnósticos¹⁸.

Neste estudo, a MRT para MM foi 2,5%; Jantunen, et al, 2006, relatou 1,9% e Pallotta, et al, 2007, descreveu 5%, porém a fonte de CTH usada foi medula óssea^{17,19}. Para LH foi encontrado 2,3%; Arantes, et al, 2011, encontrou 3,2% de MRT em pacientes com LH e Cortez, 2010, 3,74%^{20,21}. Para o grupo outras neoplasias, a MRT encontrada foi de 23%, porém, como os diagnósticos são bastante variados, não foi possível correlacionar com dados da literatura.

A SG dos pacientes transplantados neste estudo foi medida a partir do TCTHSP até a data de morte independente da causa, apesar da recidiva da doença ser um dos principais problemas do transplante autogênico. A probabilidade de SG independente das variáveis estudadas em um ano foi 79,8% e em cinco anos 55,1%. Neste relato não foi contemplado o estágio clínico dos pacientes durante todo o processo, limitando a comparação com dados encontrados na literatura.

Em relação ao MM a probabilidade de sobrevida global foi de 67,1% em cinco anos. Todaro, et al, 2011, relatou uma SG de 75% após cinco anos de seguimento, sendo que a resposta parcial ou completa ao tratamento prévio ao transplante demonstrou influência na sobrevida dos pacientes²². Barlogie, et al, 2006, relatou uma sobrevida em cinco anos após TMO em pacientes com MM em resposta completa entre 42 a 56%²³.

Para LH a probabilidade de SG em um ano foi de 81,6% semelhante ao descrito por Arantes, 2011. Em cinco anos de 55,7%, sendo inferior ao encontrado por Cortez, 2010, que relatou uma SG de 86%^{20,21}. Nos estudos internacionais as taxas de SG variaram entre 50-80%, e no Brasil, em um estudo de 2004, a taxa registrada foi de 44%²⁴.

Para LNH encontramos 45,5%, semelhante ao encontrado na literatura, com limitações de comparação devido as peculiaridades dos subtipos de linfomas analisados^{25,26}.

No grupo LMA, a probabilidade de sobrevida global em um ano encontrada foi 60%, porém o número de pacientes foi muito pequeno, não permitindo comparações com outros estudos.

No grupo outras neoplasias foi encontrado 38,5% de sobrevivência global em cinco anos, sendo o TCTHSP considerado padrão para tumor germinativo recaído; para câncer de mama permanece controverso o papel do TCTHSP; para sarcomas de Ewing, alguns pacientes podem ser beneficiados com o procedimento, principalmente aqueles com metástases ósseas e pulmonares. Para tumor cerebral não há benefícios. O TCTHSP é uma estratégia válida para tumores sólidos, em especial em doenças após recaída, porém não há estudos randomizados de fase III que demonstrem vantagens deste tipo de abordagem²⁷.

CONCLUSÃO

Este estudo permite concluir que os transplantes autogênicos de CTHSP em nossa instituição apresentam resultados semelhantes aos da literatura, sendo uma opção terapêutica para pacientes hematológicos-oncológicos que sofrem recaídas ou são refratários ao tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Silva Jr FC, Odongo FCA, Dulley FL. Células-tronco hematopoéticas: utilidades e perspectivas. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2009; 31 suppl. 1: 53-8.
2. Massumoto C, Mizukami S. Transplante autólogo de medula óssea e imunoterapia pós-transplante. *Medicina, Ribeirão Preto.* 2000; 33 (4): 405-14.
3. Schmitz N, Linch DC, Dreger P, Goldstone AH, Boogaerts MA, Ferrant A, et al. Randomized trial of filgrastim-mobilized peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients. *Lancet.* 1996; 347: 353-7.
4. Seber A. O transplante de células-tronco hematopoéticas na infância: situação atual e perspectivas. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2009; 31 suppl. 1: 59-67.
5. Jansen J, Thompson JM, Dugan MJ, Nolan P, Wiemann MC, Birhiray R, et al. Peripheral blood cell progenitor cell transplantation. *Thera Apheresis.* 2002; 6 (1): 5-14.
6. Cottler-Fox, M. Hematopoietic Progenitor Stem Cells. In RK Burt, HJ Deeg, ST Lothian, GW Santos. *Bone Marrow Transplantation.* New York: Chapman & Hall, 1996. cap. 3.1, p. 69-75.
7. Ergene U, Çagırgan S, Pehlivan M, Yılmaz M, Tombuloglu M. Factors influencing engraftment in autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation (PBSCT). *Transf Apher Sci.* 2007; 36 (1): 23-9.
8. Fu S, Liesveld J. Mobilization of hematopoietic stem cells. *Blood Rev.* 2000; 14 (4): 205-18.
9. Kessinger A and Sharp JG. Mini review. The whys and hows of hematopoietic progenitor and stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31 (5): 319-29.
10. Massumoto CM, Mendrone Jr A, Carbonell AL, Mota MA, Mizukami S, Lacer PED, et al. Mobilização e coleta de células-tronco hematopoéticas de sangue periférico. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 1996; 2: 24-7.

11. Bensinger W, Appelbaum F, Rowley S, Storb R, Sanders J, Lilleby K, et al. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. *J Clin Oncol*. 1995; 13 (10) 2547-55.
12. Cagnoni PJ, Shpall EJ. Mobilization and selection of CD34-positive hematopoietic progenitors. *Blood Rev*. 1996; 10: 1-7.
13. Fontão-Wendel R, Lazar A, Melges S, Altobeli C, Wendel S. The absolute number of circulating CD34+ cells as the best predictor of peripheral hematopoietic stem cell yield. *J Hematother*. 1999; 8(3): 255-62.
14. Jillella AP and Ustun C. What is the optimum number of CD34+ peripheral blood stem cells for an autologous transplant? *Stem Cells Dev*. 2004; 13: 598-606.
15. Neto Zanis J, Calixto RF, Ostronoff M. Citopenias Hematológicas e Falha de Enxertia Pós-Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas. In JC Voltarelli, R Pasquini, ETT Ortega. *Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas*. São Paulo: Editora Atheneu; 2009. p. 631-51.
16. Weaver CH, Schwarzberg LS, Hainsworth J, Greco FA, Li W, Buckner CD, et al. Treatment-related mortality in 1000 consecutive patients receiving high-dose chemotherapy and peripheral blood progenitor cell transplantation in community centers. *Bone Marrow Transplant*. 1997; 19: 671-8.
17. Jantunen E, Itala M, Lehtinen T, Kuittinen O, Koivunen E, Leppa S, et al. Early treatment-related mortality in adult autologous stem cell transplant recipients: a nation-wide survey of 1482 transplanted patients. *Eur J Haematol*. 2006; 76 (3): 245-50.
18. Castro Jr CGD, Gregianin LJ, Brunetto AL. Análise clínica e epidemiológica do transplante de medula óssea em um serviço de oncologia pediátrica. *J Pediatr (Rio J)*. 2003; 79 (5): 413-22.
19. Pallotta R, Lima DF, Cal F, Silva RMA, Frempong RF, Cerqueira T, et al. Transplante autólogo de células-tronco hematopoéticas como tratamento do mieloma múltiplo: experiência da Unidade de Transplante de Medula óssea da Bahia. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007; 29 (2): 144-8.
20. Arantes AM, Teixeira FS, Al Ribaie TM, Duarte LL, Silva CRA, Bariani C. Transplante autólogo de células-tronco em linfoma de Hodgkin: análise de uma opção terapêutica. *Einstein*. 2011; 9 (2): 124-9.
21. Cortez AJP. Transplante autólogo de células-tronco hematopoéticas nos pacientes com linfoma de Hodgkin: análise de 106 pacientes [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2010.107p.
22. Todaro J, Manhani ARAB, Kutner JM, Ribeiro AAF, Rodrigues M, Kerbauy FR, et al. Transplante autólogo em mieloma múltiplo: experiência de um serviço brasileiro em 15 anos de seguimento. *Einstein*. 2011; 9 (2): 119-23.

23. Barlogie B, Tricot G, Anaissie E, Shaughnessy J, Rasmussen E, van Rhee F, et al. Thalidomide and hematopoietic-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2006; 354 (10): 1021-30.
24. Bittencourt R, Souza NP. Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas para o Linfoma de Hodgkin. In JC Voltarelli, R Pasquini, ETT Ortega. *Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas*. São Paulo: Editora Atheneu; 2009. p.389-405.
25. Josting A, Sieniawski M, Glossmann JP, Staak O, Nogova L, Peters N, et al. High-dose sequential chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in relapsed and refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results of a multicenter phase II study. *Ann Oncol*. 2005; 16 (8): 1359-65.
26. Souza CA, Pagnano KBB, Lorand-Metze I, Miranda ECM, Baldissera R, Aranha FJP, et al. Brazilian experience using high-dose sequential therapy (HDS) followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation (ASCT) for malignant lymphomas. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2009; 31 suppl. 2: 9-14.
27. Lerner D, Arcuri LJ, Colares M. Transplante de células-tronco hematopoéticas para tumores sólidos. Recomendações do Consenso Brasileiro de Transplante de Medula Óssea. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010; 32 suppl. 1: 136-9.

DISCUSSÃO

Quimioterapia em altas doses seguida de TCTH é um tratamento curativo em várias neoplasias malignas. Células obtidas do sangue periférico tem se mostrado superior as células da medula óssea como fonte de células-tronco, com alto conteúdo de células CD34+, de fácil coleta e rápido enxertamento pós-transplante. Portanto, a mobilização e coleta de CTHSP são etapas essenciais para a realização do TACTHSP (OZKURT; *et al*, 2010).

A quantidade mínima de células CD34+/kg necessária para a restauração da hematopoese não está definida, porém muitos centros consideram ao menos $2,0-2,5 \times 10^6$ /kg como uma coleta aceitável (JANSEN; *et al.*, 2002). No TCTH o fator mais confiável para prever a recuperação hematológica é a quantidade de células CD34+ do produto infundido (ERGENE; *et al*, 2007).

Este estudo incluiu um grupo bastante heterogêneo de pacientes quanto aos diagnósticos de base, idade e regimes quimioterápicos utilizados antes das mobilizações, coletas e infusões. Assim, a análise dos resultados obtidos foi realizada conhecendo estas variáveis limitantes de comparação.

As estratégias mais comuns para mobilização de CTH usam apenas fatores de crescimento ou fatores de crescimento após quimioterapia. Porém, ainda há muita discussão sobre a questão de qual o método mais seguro e mais previsível para mobilização de CTH (BENSINGER; *et al*, 2009; TAKEYAMA e OHTO, 2004). Neste estudo, os pacientes que foram mobilizados com quimioterápicos relacionados ao tratamento do paciente associados ao G-CSF obtiveram um rendimento superior de células CD34+ aos demais esquemas adotados, embora todos os regimes adotados demonstrarem capacidade de promover uma boa mobilização. Segundo Bensinger *et al* as mobilizações com quimioterápicos relacionadas ao tratamento do paciente em combinação com G-CSF são regimes frequentemente bem sucedidos (BENSINGER; *et al*, 2009).

Neste estudo retrospectivo não foi encontrado influência do sexo, idade e radioterapia prévia no rendimento de células CD34+. Diferentes estudos mostraram resultados contraditórios quanto ao efeito destes fatores na mobilização de CTHSP (HAAS; *et al*, 1994; MENDRONE JR, 2007; SAKASHITA; *et al*, 2011).

Devido à variedade e quantidade de drogas usadas também não foi possível demonstrar influência da quimioterapia prévia no rendimento de células CD34+. Porém, o

diagnóstico do paciente foi encontrado como fator que influencia nas mobilizações e coletas. Pacientes com MM mostraram-se superiores aos outros diagnósticos em rendimento de células CD34+ com menor número de coletas, semelhante ao encontrado na literatura (DELAMAIN; *et al*, 2006; PASTORE; *et al*, 2004; PERRY; *et al*, 1998; SUGRUE; *et al*, 2000).

Constatou-se neste estudo uma falha de mobilização de 10,2% (18/176) dos pacientes, enquanto 89,8% (158/176) dos pacientes atingiram a dose desejada de CTH, semelhante ao descrito por outros estudos (IKEDA; *et al*, 2004; PERSEGHIN; *et al*, 2009).

A mediana de células nucleadas totais obtidas ao final das coletas foi de $7,01 \times 10^8$ /kg e de células CD34+ foi de $2,63 \times 10^6$ /kg, tendo como mediana dois procedimentos de aférese por paciente. A infusão de uma quantidade adequada de células-tronco é necessária para um rápido enxertamento e durável recuperação hematológica com menor toxicidade assegurando o sucesso do TACTHSP (KIM; *et al*, 2011).

Entre os 176 pacientes avaliados neste estudo, foram submetidos ao TACTHSP 120 pacientes com mediana de $3,17 \times 10^6$ /kg células CD34+ infundidas após o condicionamento. Após a infusão das CTH a mediana de dias para a recuperação de neutrófilos foi de 10 dias, enquanto para as plaquetas foi de 12 dias, similar a encontrado em outros estudos (BENSINGER, 1995; CAGNONI e SHPALL, 1996). Também foi encontrada correlação entre o número de células CD34+ infundidas e o tempo de enxertia de neutrófilos e plaquetas, também já relatada em outros trabalhos (ERGENE; *et al*, 2007; FONTÃO-WENDEL; *et al*, 1999; JILLELLA e USTUN, 2004).

Um parâmetro importante para avaliar a toxicidade do transplante é a mortalidade até o dia +100 pós-TMO. Entre os 120 pacientes transplantados encontramos 5% de óbitos, que é semelhante ao descrito na literatura (WEAVER; *et al*, 1997). A SG dos pacientes transplantados foi medida a partir do TCTHSP até a data de morte independente da causa. A probabilidade de SG para o grupo avaliado, independente das variáveis estudadas, em um ano foi 79,8% e em cinco anos 55,1%, não existindo diferença estatística entre os diagnósticos (P=0,811).

CONCLUSÃO

- A análise dos dados demonstra um grupo heterogêneo de pacientes não só quanto à idade e o sexo, mas também quanto à doença que motivou a indicação da coleta de CTH e TMO.

- A quantidade de células CD34+ desejada foi atingida na maioria dos pacientes submetidos a diferentes mobilizações, independente do sexo e idade. Os regimes utilizados na mobilização de CTHSP foram eficazes, sendo que o esquema com G-CSF associado aos quimioterápicos relacionados ao tratamento do paciente mostrou-se superior aos demais para o rendimento do número de células CD34+. Nos pacientes com diagnóstico de MM obteve-se um rendimento maior de células CD34+ em menor número de coletas.

- A variável contagem de leucócitos $>1,0 \times 10^6$ mL adotada para o início das coletas mostrou-se adequado e resultou em coletas efetivas, porém a determinação de células CD34+ pré-coleta no sangue periférico poderia ser adotada para reduzir o número de pacientes considerados “maus mobilizadores”.

- Radioterapia e diferentes tipos de quimioterapias prévias não influenciaram no rendimento de células CD34+. Pacientes hematológicos-oncológicos previamente tratados com quimioterapia e/ou radioterapia podem ser submetidos à mobilização e coleta de CTHSP com bons rendimentos de células CD34+.

- Há correlação entre a quantidade maior de células CD34+ e a recuperação mais rápida de neutrófilos e plaquetas.

- A MRT do grupo e a sobrevida global dos pacientes pós-TMO está em concordância com o descrito na literatura, reforçando que o TCTHSP constitui-se em uma opção terapêutica eficiente para pacientes hematológicos-oncológicos que sofrem recaídas ou são refratários ao tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A.; MASSUMOTO, C.; MASSUMOTO, S. **Manual Prático de Processamento de Células-Tronco Periféricas**. 1. ed. São Paulo: Jorge Costa Gráfica e Editora. 2001.

BANDARENKO, N.; BRECHER, M. E. Collection and transfusion of leukocytes, dendritic cells, and stem cells. In: BEUTLER, E.; LICHTMAN, M. A.; COLLER, B. S.; KIPPS, T. J.; SELIGSOHN, U. (Ed.). **Williams, Hematology**. 6th ed. New York: Mc Graw Hill, 2001, p. 1893-1904.

BENSINGER, W.; DIPERSIO, J.F.; McCARTY, J. M. Improving Stem Cell Mobilization Strategies: Future Directions. **Bone Marrow Transplantation**, v. 43, n. 3, p. 181-195, feb. 2009.

BENSINGER, W.; APPELBAUM, F.; ROWLEY, S.; et al. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. **Journal Clinical of Oncology**, v. 13, n. 10, p. 547-555, 1995.

BITTENCOURT, H.; ROCHA, V. A célula-tronco hematopoiética e seu uso clínico. In: ZAGO M. A. E COVAS, D.T. (Ed.). **Células-Tronco, A Nova Fronteira da Medicina**. São Paulo: Editora Atheneu, 2006, p. 115-130.

CAGNONI, P. J.; SHPALL, E. J. Mobilization and selection of CD34-positive hematopoietic progenitors. **Blood Rev**, v. 10, p. 1-7, 1996.

CASTRO JR, C. G. D.; GREGIANIN, L. J.; BRUNETTO, A. L. Análise clínica e epidemiológica do transplante de medula óssea em um serviço de oncologia pediátrica. **Jornal de Pediatria**, v. 79, n. 5, p. 413-422, 2003.

COOPER, D. L.; SEROPIAN, S. Autologous Stem Cell Transplantation. In: DE VITA JR, V. T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S.A. (Ed.). **Cancer, Principles and Practice of Oncology**. 7th ed., Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2005, p. 2414-2423.

COOTTLER-FOX, M. Marrow Processing and Cryopreservation. In: BURT, R. K.; DEEG, H. J.; LOTHIAN, S. T.; SANTOS, G. W. (Ed.). **Bone Marrow Transplantation**. New York: Chapman & Hall, 1998. cap. 3.4, p. 86-92.

COTTLER-FOX, M. Hematopoietic Progenitor Stem Cells. In: BURT, R. K.; DEEG, H. J.; LOTHIAN, S. T.; SANTOS, G. W. (Ed.). **Bone Marrow Transplantation**. New York: Chapman & Hall, 1996. cap. 3.1, p. 69-75.

COVAS, D. T. Biologia das Células-Tronco Adultas. In: VOLTARELLI, J. C.; PASQUINI, R.; ORTEGA, E. T. T. (Ed). **Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, p. 43-55.

DELAMAIN, M. T.; METZE, K.; MARQUES, J. F.; et al. Optimization of CD34+ collection for autologous transplantation using the evolution of peripheral blood cell counts after mobilization with chemotherapy and G-CSF. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 34, n. 1, p. 33-40, feb. 2006.

ERGENE, U.; et al. Factors influencing engraftment in autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation (PBSCT). **Transfusion and Apheresis Science**, v. 36, n. 1, p. 23-29, feb. 2007.

FONTÃO-WENDEL, R.; et al. The absolute number of circulating CD34+ cells as the best predictor of peripheral hematopoietic stem cell yield. **Journal of Hemotherapy**, v. 8, n. 3, p. 255-262, jun. 1999.

HAAS, R.; MOHLE, R.; FRUHAUF, S.; et al. Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. **Blood**, v. 83, n. 12, p. 3787-3794, jun. 1994.

IKEDA, K.; KOZUKA, T.; HARADA, M. Factors for PBPC collection efficiency and collection predictors. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 31, n. 3, p. 245-259, dec. 2004.

JANSEN, J.; THOMPSON, J. M.; DUGAN, M. J.; et al. Peripheral blood cell progenitor cell transplantation. **Therapeutic Apheresis**, v. 6, n. 1, p. 5-14, 2002.

JILLELLA, A. P. AND USTUN, C. What is the optimum number of CD34+ peripheral blood stem cells for an autologous transplant? **Stem Cells and Development**, v. 13, p. 598-606, 2004.

KESSINGER, A. AND SHARP, J. G. Mini review. The whys and hows of hematopoietic progenitor and stem cell mobilization. **Bone Marrow Transplantation**, v. 31, n. 5, p. 319-329, 2003.

KIM, JE; YOO, C; KIM, S; et al. Optimal timing of G-CSF administration for effective autologous stem cell collection. **Bone Marrow Transplantation**, v. 46, p. 806-812, 2011.

MASSUMOTO, C.; MIZUKAMI, S. Transplante autólogo de medula óssea e imunoterapia pós-transplante. **Medicina Ribeirão Preto**, v. 33, n. 4, p. 405-414, out./dez. 2000.

MENDRONE, J. R. A. **Coleta de células progenitoras hematopoéticas de sangue periférico após administração de ciclofosfamida e fator estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF): uma análise de 307 pacientes.** 163 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MIRANDA, E. C. M.; SILVA, G. T. DA; PASQUINI, M.C. Pesquisa Clínica e Bioestatística Aplicadas ao Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas. In: VOLTARELLI, J. C.; PASQUINI, R.; ORTEGA, E. T. T. (Ed). **Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas.** São Paulo: Editora Atheneu, 2009. cap. 3, p. 133-152.

NARDI, N. B.; ALFONSO, Z. C. Células-Tronco Hematopoéticas. In: ZAGO, M. A. E COVAS, D. T. (Ed.). **Células-Tronco, A Nova Fronteira da Medicina.** São Paulo: Editora Atheneu, 2006, p. 49-65.

NUCCI, M.; MAIOLINO, A. Infecções em transplante de medula óssea. **Medicina Ribeirão Preto**, v. 33, p. 278-293, jul./set. 2000.

OZKURT, ZN; YEGIN, ZA; SUYANI, E; et al. Factors affecting stem cell mobilization for autologous hematopoietic stem cell transplantation. **Journal of Clinical Apheresis**, v. 25, p. 280-286, 2010.

PASTORE, D.; SPECCHIA, G.; MESTICE, A.; et al. Good and poor CD34+ cells mobilization in acute leukemia: analysis of factors affecting the yield of progenitor cells. **Bone Marrow Transplantation**, v. 33, n. 11, p. 1083-1087, jun. 2004.

PERRY, A. R.; WATTS, M. J.; PENIKET, A. J.; et al. Progenitor cell yields are frequently poor in patients with histologically indolent lymphomas especially when mobilized within 6 months of previous chemotherapy. **Bone Marrow Transplantation**, v. 21, n. 12, p. 1201-1205, jun. 1998..

PERSEGHIN, P.; et al. Management of poor peripheral blood stem cell mobilization: incidence, predictive factors, alternative strategies and outcome. A retrospective analysis on 2177 patients from three major Italian institutions. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 41, n. 1, p. 33-37, aug. 2009.

PETRILLI, A. S.; et al. **Manual do I Curso de Processamento de Células Progenitoras Hematopoiéticas para Transplante de Medula Óssea**. São Paulo: Instituto de Oncologia Pediátrica. 2000

ROWLEY, S. D. Pratical Aspects of Stem Cell Collection. In: HOFFMAN, R; et al. **Hematology - Basic Principles and Practice**. 3rd ed., New York: Churchill Livingstone, 2000, p.1642-1658.

SAKASHITA , A. M.; KONDO, A. T.; RIBEIRO, A. A. F.; et al. Fatores que afetam a coleta de células-tronco hematopoéticas do sangue periférico por leucoaférese de grande volume:experiência de um único centro. **Einstein**, v. 9, n. 2, p.196-200, abr/jun. 2011.

SEBER, A. O transplante de células-tronco hematopoéticas na infância: situação atual e perspectivas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, suppl. 1, p. 59-67, 2009.

SOUZA, A. C.; MARQUES JR, J. F. C.; BOUZAS, L. F. S. Fontes, Mobilização e Coleta de Células-Tronco Hematopoéticas para Ttransplante. In: VOLTARELLI, J. C.; PASQUINI, R.; ORTEGA, E. T. T. (Ed). **Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009. cap. 26, p. 565-588.

SUGRUE, M. W.; WILLIAMS, K.; POLLOCK, B. H.; et al. Characterization and outcome of "hard to mobilize" lymphoma patients undergoing autologous stem cell transplantation. **Leukemia and Lymphoma**, v. 39, n. 5-6, p. 509-519, nov. 2000.

SUTHERLAND, D. R.; STEWART, A. K.; KEATING, A. CD 34 antigen: molecular features and potential clinical applications. **Stem Cells**. v. 11, suppl. 3, p. 50-57, 1993.

TAKEYAMA, K.; OHTO, H. PBSC mobilization. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 31, n. 3, p. 233-243, dec. 2004.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. Pró-Reitoria de Graduação e Pesquisa. **Estrutura e Apresentação de Monografias, Dissertações e Teses: MDT**. Santa Maria. 2012.

VIGORITO, A. C.; SOUZA, C. A. Transplante de células-tronco hematopoéticas e a regeneração da hematopoese. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, p. 280-284, 2009.

VOLTARELLI, J. C.; FERREIRA, E.; PASQUINI, R. História do Transplante de Células-Tronco hematopoéticas no Brasil. In: VOLTARELLI, J. C.; PASQUINI, R.; ORTEGA, E. T. T. (Ed). **Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009. cap. 1.2, p. 15-42.

WEAVER, C. H.; SCHWARZBERG, L. S.; HAINSWORTH, J.; et al. Treatment-related mortality in 1000 consecutive patients receiving high-dose chemotherapy and peripheral blood progenitor cell transplantation in community centers. **Bone Marrow Transplantation**, v. 19, p. 671-678, 1997.

 <p>MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)</p>	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa Comitê de Ética em Pesquisa - CEP- UFSM REGISTRO CONEP: 243</p> 
--	---

CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Análise da mobilização, coleta e infusão de células progenitoras hematopoiéticas do sangue periférico para transplante autogênico.

Número do processo: 23081.007477/2011-20

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0106.243.000-11

Pesquisador Responsável: José Édson Paz da Silva

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Janeiro/ 2012- Relatório parcial

Janeiro/ 2013- Relatório final

Os membros do CEP-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA REUNIÃO DE APROVAÇÃO: 14/06/2011

Santa Maria, 21 de junho de 2011



Félix A. Antunes Soares
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa-UFSM
Registro CONEP N. 243.

Gmail - Artigo Submetido no SGP/RBHH

Página 1 de 1



Virginia Coser <vmcoser@gmail.com>

Artigo Submetido no SGP/RBHHsgprbh@sgponline.com.br <sgprbh@sgponline.com.br>
Para: vmcoser@gmail.com

27 de dezembro de 2012 13:09

Ilmo(a) Sr.(a)
Prof(a), Dr(a) Virginia Maria CoserReferente ao código de fluxo: 2107
Categoria: Artigo Original

Informamos que recebemos o manuscrito "ANÁLISE DA MOBILIZAÇÃO E COLETA DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO (CTHSP) PARA TRANSPLANTE AUTÓLOGO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA", que será enviado para apreciação dos Revisores para possível publicação/participação na Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. Por favor, para qualquer comunicação futura sobre o referido manuscrito cite o número de código de fluxo apresentado acima.

Obrigado por submeter seu trabalho na Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia

Dados de Acesso
Usuário: vmcoser
Senha: [REDACTED]

Atenciosamente,

Dr. Milton Artur Ruiz
EditorRua Catarina Nucci Parise, 760 - Jardim Vivendas
São José do Rio Preto - SP - Brazil
CEP 15090-470
Tel/Fax: (17) 3226-7091
email: brazilbloodjournal@yahoo.com.br

««« Favor não responder esta mensagem pois ela foi gerada automaticamente pelo SGP »»»

sgprbh@sgponline.com.br

Para

valusiahemato@yahoo.com.br



Seu nome e e-mail foram cadastrados como autor no artigo sob código de fluxo 2107

Nome: Valússia Scapin

Acesse o SGP e confirme seus dados através do link abaixo:

Link:

<http://www.sgponline.com.br/rbhh/sgp//EditaCoAutor.asp?IDC=6414&IDF=2107&idioma=português>

Atenciosamente,

Dr. Milton Artur Ruiz

Editor

Rua Catarina Nucci Parise, 760 - Jardim Vivendas
São José do Rio Preto - SP - Brazil
CEP 15090-470
Tel/Fax: (17) 3226-7091
email: brazilbloodjournal@yahoo.com.br

««« Favor não responder esta mensagem pois ela foi gerada automaticamente pelo SGP