

JOSÉ FRANCISCO COMENALLI MARQUES JÚNIOR

**MOBILIZAÇÃO E COLETA DAS CÉLULAS PROGENITORAS
HEMOPOIÉTICAS PERIFÉRICAS PARA TRANSPLANTE AUTÓLOGO
EM PACIENTES ONCO-HEMATOLÓGICOS**

Orientador: PROF. DR. CÁRMINO ANTÔNIO DE SOUZA



**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE**

Universidade Estadual de Campinas, 2000

JOSÉ FRANCISCO COMENALLI MARQUES JÚNIOR

**MOBILIZAÇÃO E COLETA DAS CÉLULAS PROGENITORAS
HEMOPOIÉTICAS PERIFÉRICAS PARA TRANSPLANTE AUTÓLOGO
EM PACIENTES ONCO-HEMATOLÓGICOS**

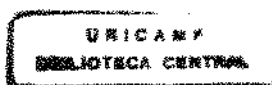
Orientador: PROF. DR. CÁRMINO ANTÔNIO DE SOUZA

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação, da
Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do Título de
Doutor em Clínica Médica



Universidade Estadual de Campinas, 2000

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



2000.15.424

Banca Examinadora

Titulares:

Prof. Dr. Cármino Antônio de Souza

Profa. Dra. Irene Lorand-Metze

Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa

Prof. Dr. Paulo Eduardo de Abreu Machado

Prof. Dr. Milton Artur Ruiz

Suplentes:

Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima

Prof. Dr. Wellington Moraes de Azevedo

Data: 21/08/2000

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

*Aos meus pais, **Prof. Marques e Cláucia**, pela orientação e norteio dos meus princípios;*

*À minha esposa, **Sílvia**, pelo apoio e carinho, dedicados em todos os momentos;*

*Aos meus filhos, **Nicole, Letícia e Gustavo**, pela oportunidade de orientá-los e norteá-los.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza, professor, orientador, educador, companheiro e amigo, responsável direto pela realização deste trabalho;

À Profa. Dra. Irene Lorand-Metze, pela correção e adequação, indispensáveis para a finalização deste estudo;

Ao Prof. Dr. Euclides de Lima Filho, pela elaboração e execução da análise estatística;

Ao biomédico Eduardo, e ao biólogo Márcio, pela amizade e confiabilidade para a realização das aféreses;

À Mariúce e Iara, pelo carinho e dedicação aos pacientes, doadores e colegas de trabalho;

À Eliana e Roberto, pela ajuda na organização dos dados clínicos e laboratoriais;

À Cida, responsável pela realização da imunofenotipagem e quantificações celulares;

À Mônica, responsável pela realização dos hemogramas;

À Sandra e Rosana, pela finalização estética deste trabalho;

Aos médicos da Divisão de Hemoterapia do Hemocentro de Campinas, pelo acompanhamento clínico dos pacientes durante as aféreses;

Aos médicos da Unidade de Transplante de Medula Óssea do Hemocentro de Campinas, pela ajuda na compilação dos dados clínicos dos pacientes;

Aos médicos residentes da Disciplina de Hematologia do Departamento de Clínica Médica, pela ajuda, em todos os aspectos, para a realização deste trabalho;

À Coordenadoria do Hemocentro da UNICAMP, por tornar viável a realização deste estudo;

Aos pacientes, pela confiança depositada em nosso trabalho diário.

ANOVA:	Análise de variância
CFC-mix:	Células formadoras de colônias mistas
CFU-GM:	Unidade formadora de colônias de granulócitos e macrófagos
CPP:	Células progenitoras periféricas
CY:	Ciclofosfamida
DH:	Doença de Hodgkin
G-CSF:	fator estimulador de colônia de granulócitos
GM-CFC:	Células formadoras de colônias de granulócitos e monócitos
GM-CSF:	fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos
IBMTR:	Registro internacional de transplante de medula óssea
ICAM-1:	Moléculas de adesão intercelular
LD:	Lactato desidrogenase
LFA-1:	<i>"leucocyte function associated molecule 1"</i>
LMC:	Leucemia mielóide crônica
LNH:	Linfoma não-Hodgkin
MM:	Mieloma múltiplo
SCF:	fator estimulador de célula progenitora
VCAM-1:	Moléculas de adesão intercelular e vascular
VLA-4:	Integrina <i>"very late antigen 4"</i>
VP-16:	Etoposide

- Figura 1:** Histograma dos dias de recuperação leucocitária após a quimioterapia, para os leucócitos chegarem a $1,0 \times 10^9/L$, em função da porcentagem dos pacientes.
- Figura 2:** Histograma da obtenção das células $CD34^+$ (somatória de todos os procedimentos).
- Figura 3:** “Boxplot” mostrando os valores descritos do número de procedimentos de aféreses e dias até a recuperação leucocitária, após a quimioterapia de mobilização. As áreas achuriadas estão relacionadas ao intervalo de confiança de 95% da mediana.
- Figura 4:** “Boxplot” mostrando os valores descritos do tipo de quimioterapia de mobilização e recuperação leucocitária após a quimioterapia mobilizante. As áreas achuriadas estão relacionadas ao intervalo de confiança de 95% da mediana.
- Figura 5:** Curva de probabilidade acumulada hipotética e empírica para a variável “número de procedimentos de aféreses”, em modelo Gaussiano. A linha sólida representa a função de distribuição empírica, e a pontilhada, a hipotética.
- Figura 6:** Curva de probabilidade acumulada hipotética e empírica para a variável “dias para recuperação leucocitária”, em modelo Gaussiano. A linha sólida representa a função de distribuição empírica, e a pontilhada, a hipotética.
- Figura 7:** Distribuição Gaussiana Bivariada, com dados ajustados e teóricos. A linha inclinada mostra a regressão linear entre as variáveis “número de procedimentos de aféreses” e “dias para recuperação leucocitária” ($r=0,36$).
- Figura 8:** Distribuição Gaussiana Bivariada, simulada com 1000 amostras (azuis) e dados ajustados (vermelhos).
- Tabela 1:** Característica dos pacientes submetidos a mobilização e coleta de CPP.
- Tabela 2:** Característica dos regimes de mobilização das CPP com quimioterapia e fator de crescimento hemopoético.
- Tabela 3:** Dados relativos aos procedimentos de leucaféreses ($n=115$).
- Tabela 4:** Parâmetros hematológicos pré e pós cada procedimento de leucaférese.
- Tabela 5:** Características dos produtos obtidos em cada procedimento de leucaférese.

Tabela 6: Características clínicas e biológicas da mobilização.

Tabela 7: Características da mobilização e coleta de acordo com a obtenção das células CD34⁺

Anexo I: Termo de Consentimento Informado

Anexo II: Técnica para coleta de CPP em equipamento Dideco Vivacell

Anexo III: Técnica para coleta de CPP em equipamento Baxter CS 3000 plus

Anexo IV: Técnica para coleta de CPP em equipamento Fresenius AS104

Anexo V: Características dos pacientes

Anexo VI: Regime de mobilização

Anexo VII: Características técnicas e eficiência de coleta dos procedimentos de leucaféreses

Anexo VIII: Parâmetros hematológicos pré e pós procedimentos de leucaférese

Anexo IX: Características dos produtos coletados por leucaférese

Anexo X: Dados clínicos e biológicos relacionados ao período da mobilização

Resumo	i
Summary	iv
I. Introdução	01
I.1. Considerações Históricas.....	02
I.2. Identificação e Quantificação das CPP.....	06
I.3. Mobilização das células progenitoras para o sangue periférico	08
I.3.1. Biologia do fenômeno da mobilização	09
I.3.2. Mobilização com quimioterapia.....	13
I.3.3. Mobilização com Fator de Crescimento Hemopoiético	14
I.3.4. Mobilização com Quimioterapia associado a Fator de crescimento hemopoiético.....	16
I.3.5. Fatores que influenciam o fenômeno da mobilização	17
I.4. Coleta das CPP.....	18
I.4.1. Hemaféreses	18
I.4.2. Quantidade de CPP necessárias para enxertamento	20
I.4.3. Parâmetros para determinar a época da coleta das CPP	21
I.4.4. Fatores preditivos para a coleta das CPP.....	23
I.5. Racionalidade do Trabalho.....	24
II. Objetivos	26
III. Casuística e Métodos	28
III.1. Elegibilidade.....	29
III.2. Regime de mobilização	30
III.3. Cuidados de suporte	32

III.4. Coleta das CPP.....	33
III.5. Contagens celulares e quantificação das células CD34 ⁺	36
III.6. Análise Estatística	37
IV. Resultados	39
IV.1. Características dos pacientes	40
IV.2. Regimes de mobilização	42
IV.3. Efeitos colaterais e toxicidade	43
IV.4. Procedimentos de leucaféreses	43
IV.5. Impacto dos procedimentos de leucaféreses nos parâmetros hematológicos dos pacientes.....	45
IV.6. Características dos produtos obtidos por leucaféreses	46
IV.7. Características clínicas e biológicas da mobilização	46
IV.8. Comparação entre os pacientes quanto à coleta do número alvo de CPP.....	50
IV.9. Variáveis que influenciaram a obtenção das células CD34 ⁺ - Fatores preditivos.....	51
V. Discussão	60
VI. Conclusões	73
VII. Referências Bibliográficas	76
VIII. Anexos	a

Resumo

Este é um estudo prospectivo e controlado, de fase II, desenvolvido para analisar a mobilização e a coleta de células progenitoras hemopoiéticas periféricas (CPP), no sentido de identificar fatores preditivos relacionados à coleta por leucaféreses, em pacientes acometidos por doenças hematológicas malignas. De 01/1998 até 08/1999, 41 pacientes (26M/15F), com idade mediana de 35 anos (12 – 59), foram submetidos a 115 procedimentos de leucaféreses para coleta de CPP. Os diagnósticos foram: 21 (51,2%), Linfoma não-Hodgkin (LNH); 15 (36,6%), Doença de Hodgkin (DH); 2 (4,9%), Leucemia mielóide crônica (LMC) e 3 (7,3%), Mieloma múltiplo (MM). Os pacientes foram mobilizados com quimioterapia (Ciclofosfamida (CY) 4g/m², CY 7g/m², Etoposide (VP-16) 2g/m², esquemas “DHAP” ou “Mini-Ice”), seguido por G ou GM-CSF. As leucaféreses foram iniciadas quando a contagem leucocitária periférica atingiu 1,0 x 10⁹/L, objetivando coletar o mínimo de 5 x 10⁶ células CD34⁺/Kg de peso. Onze (9,5%) procedimentos foram realizados em equipamento Dideco Vivacell modelo BT 798 CE/A; Trinta e um (33,9%), em equipamento Baxter CS 3000 plus e sessenta e cinco (56,5%), em equipamento Fresenius AS 104. Nós analisamos as seguintes variáveis: idade, diagnóstico, regime quimioterápico de mobilização, tipo de fator de crescimento hemopoiético, número de linhas quimioterápicas prévias, antecedente de radioterapia, dias de recuperação leucocitária após quimioterapia de mobilização e número de procedimentos de leucaféreses necessários para a coleta da quantidade desejada de células CD34⁺. A análise estatística foi utilizada com métodos descritivos, ajuste pela Gaussiana (tipo “goodness of fit”), análise univariada e multivariada (ANOVA), correlação de Pearson e análise de regressão com curva Gaussiana bivariada. Foram realizados a mediana de

três procedimentos de leucaféreses por paciente (1 – 6). A mediana de dias para a contagem leucocitária periférica atingir $1,0 \times 10^9/L$ após o “nadir” foi 12 (7-19), e de células CD34⁺ coletadas foi $6,19 \times 10^6/Kg$ (0,22 – 33,78). A mediana da eficiência de coleta para as células CD34⁺ foi 60,1% (2,40 – 326,79). Em onze pacientes (26,8%), não foi conseguido coletar a quantidade desejada de células CD34⁺. Os pacientes mobilizados com CY $4g/m^2$, apresentaram recuperação leucocitária mais rápida ($p=0,03$) e menor número de procedimentos de leucaféreses, coletaram mais células CD34⁺ ($p=0,04$). Na análise multivariada (ANOVA), quando testamos a variável “dias para recuperação leucocitária”, obtivemos uma correlação linear dos preditores “número de procedimentos de aféreses” e “tipo de quimioterapia de mobilização” (coeficientes de 0,86 e 0,95, respectivamente). Para a variável “número de procedimentos de leucaféreses” e “dias para a recuperação leucocitária após a quimioterapia de mobilização”, obtivemos coeficiente de correlação de 0,36 ($p=0,02$). Em conclusão, este estudo mostra a viabilidade para mobilizar e coletar células progenitoras hemopoiéticas periféricas, em pacientes onco-hematológicos, previamente tratados com quimioterapia e/ou radioterapia, com alta eficiência de coleta e baixa morbidade. Há correlação linear entre os dias para a recuperação leucocitária, após a quimioterapia de mobilização, e o número de procedimentos de leucaféreses, necessários para se coletar a quantidade desejada de células CD34⁺. O estudo sugere que a rápida recuperação leucocitária após a quimioterapia de mobilização, principalmente quando usado ciclofosfamida $4 g/m^2$, é um importante preditor para poucos procedimentos de leucaféreses, para se obter boa coleta de células CD34⁺.

Summary

This is a prospective and controlled study to analyse the mobilisation and collection of pluripotent precursor cells in order to assess the predictive factors related to CD34⁺ yield in patients affected by haematological malignancies. From January/98 to August/99, 41 patients (26 Male/15 Female), with a median age of 35 years (12 – 59), underwent 115 procedures for CD34⁺ cells collection. The diagnoses were: 21 (51.2%) non-Hodgkin lymphomas (NHL); 15 (36.6%) Hodgkin's disease (HD); 2 (4.9%) chronic myeloid leukaemia (CML) and 3 (7.3%) multiple myeloma (MM). Patients were mobilised using chemotherapy (Cyclophosphamide (CY) 4 g/m², CY 7 g/m², Etoposide 2g/m², "DHAP" or "Mini-Ice" regimens) followed by G or GM-CSF. Leukapheresis was started when peripheral white blood cell count (WBC) reached $1.0 \times 10^9/L$. The aim was to collect at least 5×10^6 CD34⁺ cells/Kg of body weight. Eleven (9.5%) procedures were performed in Dideco Vivacell BT 798 CE/A; thirty nine (33.9%) in Baxter CS 3000 plus and sixty-five (56.5%) in Fresenius AS 104 equipment. We analysed the following variables: age, diagnosis, CT mobilisation regimen, growth factor, previous CT lines, prior RT, WBC recovery and number of apheresis. For statistical analysis, we used descriptive statistics, Gaussian adjustment (goodness of fit), univariate analysis and multivariate analysis (ANOVA), Pearson's correlation and regression with bivariate Gaussian curves. We performed a median of three procedures per patient (1-6). The median of days needed for the WBC to reach $1.0 \times 10^9/L$ after "nadir" was 12 (7-19). The median of CD34⁺ cells collected was $6.19 \times 10^6/Kg$ (0.22-33.78). The median of CD34⁺ efficiency was 60.1% (2.40-326.79). Eleven patients (26.8%) failed to collect the target of CD34⁺ cells. Patients mobilised with CY 4 g/m² presented recovery for WBC in less days ($p=0.03$) and less apheresis procedures collected more CD34⁺ cells ($p=0.04$). In ANOVA, the days to WBC recovery had a linear function of the predictors "number of

aphereses" and "type of mobilisation CT" (coefficients: 0.86 and 0.95 respectively). For "number of apheresis procedures" and "WBC recovery", we obtained a correlation coefficient of 0.36 ($p=0.02$). This study shows the viability to mobilise and collect PBPC in patients with previous treatment for haematological malignancies, with high efficiency collection and low morbidity related to the procedures. There is a linear correlation between the days needed for WBC recovery after mobilisation and the number of apheresis procedures to collect the target CD34⁺ cells. The study suggests that early WBC recovery, using mainly CY 4 g/m² mobilisation chemotherapy, is an important predictor for a low number of apheresis to achieve a good CD34⁺ yield.

I. Introdução

1.1. Considerações Históricas

O primeiro uso da medula óssea humana para fins terapêuticos data de 1891, sendo administrada oralmente. A administração intravenosa foi realizada em 1937, porém, os primeiros estudos clínicos apropriados começaram em 1957, nos Estados Unidos, com os trabalhos de Thomas e em 1959, na França, com os trabalhos de Mathé. Os resultados iniciais foram frustrantes, com a morte da grande maioria dos pacientes. O desenvolvimento do conhecimento do sistema de histocompatibilidade no final dos anos 60 e início dos anos 70, associado à evolução da hemoterapia, com o oferecimento de suporte transfusional mais adequado e seguro, representou grande avanço, caracterizando uma visão otimista do uso da medula óssea humana para o tratamento em diversas doenças (DODDS & MA, 1986).

Até há pouco tempo, a aspiração da medula óssea foi o procedimento clássico para a coleta de células, visando a recuperação hemopoiética. Porém, é tida como um procedimento desconfortável ao doador ou paciente, uma vez que as punções são dolorosas, exigem anestesia geral, e envolvem grande perda de hemácias, havendo, muitas vezes, necessidade de transfusões homólogas ou autólogas. Pode também ser inviável em determinadas condições, devido a contra-indicações clínicas ao procedimento anestésico, a dificuldades mecânicas de aspiração, infiltração pela doença de base ou irradiação prévia do sítio de coleta (BUCKNER et al, 1994).

Na vida fetal, a circulação periférica é a fonte primária de células progenitoras hemopoiéticas que migram, via fluxo sangüíneo, até uma matriz medular aplásica. Assim, o conceito básico é de que as células progenitoras periféricas (CPP), em determinadas condições clínicas, podem ser consideradas a fonte mais fisiológica para repovoar a medula óssea rendida à mieloablação (KORBLING, 1991).

BRECHER & CRONKITE (1951) foram os primeiros a documentar, em ratos, que células progenitoras hemopoiéticas circulam no sangue periférico, e podem proteger os animais irradiados e com falência medular. GOODMAN & HODGSON (1962) demonstraram que células hemopoiéticas progenitoras encontradas na circulação periférica, transplantadas em ratos irradiados, poderiam levar ao enxertamento de granulócitos e eritroblastos, originários do doador. CAVINS et al, também em 1962, reportaram a reconstituição da hemopoiese após tratamento ablativo com irradiação corporal total, com medula óssea estocada de cães e, dois anos após, o mesmo grupo documentou o resgate hemopoiético com frações leucocitárias criopreservadas. As células capazes de formar colônias a partir do sangue periférico humano, foram primeiramente descritas em 1971, por McCREDIE et al, sendo denominada GM-CFC (granulocyte and macrophages colony-forming cell).

Devido ao princípio de que as células mielóides progenitoras estão muito aumentadas no sangue periférico de pacientes portadores de leucemia mielóide crônica (LMC), o concentrado leuco-plaquetário, ou "buffy-coat", criopreservado na fase crônica, foi primeiramente utilizado para restauração medular, após o tratamento ablativo na fase acelerada ou na crise blástica, por GOLDMAN et al (1979). Após, foi demonstrado que a recuperação hemopoiética, em situações semelhantes, foi mais rápida do que com a utilização da medula óssea, sendo também, sustentada até a recorrência da crise blástica (HAINES et al, 1984).

O sucesso do transplante de medula óssea com CPP em humanos, foi primeiramente reportado em fins de 1985 e 1986 (JUTTNER, 1985; KORBLING et al, 1986; REIFFERS et al, 1986; KESSINGER et al, 1986). A partir daí, houve crescente tendência ao aumento do uso da coleta de CPP para transplante autólogo, por

considerar que, além de promover reconstituição hemopoiética mais rápida, ela reduz a possibilidade de contaminação com células malignas quando comparada à medula óssea, além de não haver necessidade de anestesia geral para a coleta, e de se prevenir os riscos da aspiração de grandes quantidades de medula óssea, em pacientes que já têm anormalidade neste tecido (JUTTNER et al, 1989).

KORBLING (1986) descreveu o caso de um paciente, portador de linfoma de Burkitt, em remissão completa, e que recebeu tratamento mieloablativo com radioterapia e altas doses de ciclofosfamida (CY), seguido por transplante autólogo de CPP. A reconstituição das três linhagens celulares ocorreu rapidamente, demonstrando que as células progenitoras periféricas são capazes de restaurar completamente a função hemopoiética em humanos.

As células progenitoras, em condições habituais, são em número muito reduzido na circulação periférica (UDOMSAKI, 1992) e, para ser factível coletá-la, pode-se aumentar sua quantidade no sangue periférico, fenômeno chamado de mobilização, que pode ser conseguido, transitoriamente, na época da recuperação após a quimioterapia mielossupressiva com determinadas drogas, como a CY (TO et al, 1990) e o Etoposide (VP-16) (GIANNI et al, 1992). Além disso, com o advento e disponibilidade comercial das citoquinas, ou fatores de crescimento hemopoiético recombinantes, tais como o fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF) ou o fator estimulador de colônia de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), pode-se amplificar a mobilização destas células para o sangue periférico (KORBLING et al, 1995; MAJOLINO et al, 1995; SHIMAZAKI et al, 1995; HIURA et al, 1995; HAWKINS & JUTTNER, 1995, entre outros). Quando utilizados seqüencialmente, há um sinergismo na mobilização, aumentando muito mais a quantidade circulante de células

progenitoras, permitindo-se coletar um grande número utilizando técnicas de hemaféreses (RICHMAN et al, 1976; SIENA et al, 1989; HAAS et al, 1992; BOIRON et al, 1993).

Ainda no início da década de 90, o transplante de medula óssea autólogo com CPP era visto mais como um suplemento para o transplante autólogo convencional a uma substituição, devendo cumprir as condições básicas de completa e sustentada reconstituição hemopoiética seguindo terapia mieloablativa (KORBLING, 1991). Porém, este mesmo autor evidenciou que poderia haver indicações clássicas para a coleta de CPP, como nos casos de infiltração tumoral pélvica ou prévia irradiação, muitas vezes vistas em pacientes com linfomas. Há indícios que, em doenças hematológicas malignas, a coleta de CPP deva ser menos "contaminada" com células tumorais clonogênicas do que a medula óssea, bem como mais rápida recuperação hematológica nestes casos e, conseqüentemente redução do período de aplasia, diminuindo a toxicidade, reduzindo o requerimento de antibióticos e produtos hemoterápicos, culminando no encurtamento do período de hospitalização, e reduzindo o custo total do procedimento (D'ARENA et al, 1998).

Dados recentes do Registro Internacional de Transplante de Medula Óssea (IBMTR, 1995), mostram que, desde 1990, o número de transplantes autólogos têm excedido os alogênicos. Além do mais, desde 1993, as células sangüíneas têm sido usadas mais freqüentemente que as medulares em transplantes autólogos (TO et al, 1997).

Sendo assim, a crescente utilização das CPP como resgate da terapêutica quimioterápica de alta dosagem constitui, hoje, em uma importante abordagem terapêutica das neoplasias hematológicas como linfomas não Hodgkin (LNH)

(KESSINGER et al, 1989; DREYFUS et al, 1992; SANTINI et al, 1996), Doença de Hodgkin (DH) (GIANNI et al, 1993; BIERMAN, VOSE, ARMITAGE, 1994), mieloma múltiplo (MM) (FERMAND et al, 1993; MARIT et al, 1996) e leucemia mielóide crônica (LMC) (CARELLA et al, 1997).

1.2. Identificação e quantificação das CPP

O termo hemopoiese, refere-se ao processo de manutenção controlado da substituição homeostática das células do sangue. A hemopoiese aparece inicialmente no saco vitelínico (WOOD, 1982). Durante o desenvolvimento embrionário, o fígado fetal é o principal local de produção das células sangüíneas e, a partir daí, as células migram, através da corrente sangüínea, para os ossos em desenvolvimento, os quais passam a ser o principal centro da hemopoiese durante toda a vida adulta.

Na medula óssea são encontradas células sangüíneas em vários estágios de desenvolvimento, bem como células mais primitivas, que funcionam como precursoras das várias linhagens de células maduras. É conhecido atualmente, que essas células precursoras derivam de uma célula comum, denominadas células primordiais ou pluripotentes (ABRAMSON et al, 1977).

As células pluripotentes estão presentes em quantidade reduzida, correspondente a cerca de 0,01 a 0,05 % do total de células nucleadas da medula óssea, distinguindo-se das demais células hemopoiéticas pela sua capacidade de proliferação, auto-renovação e diferenciação. No caminho deste processo, as células pluripotentes produzem células de desenvolvimento mais restrito, como as células multipotentes formadoras de colônias mistas (CFC-mix) que, por sua vez, proliferam-se e diferenciam-se para formar células maduras das várias linhagens mielóides, como

as células progenitoras tripotentes formadoras de colônias de granulócitos/monócitos (GM-CFC), as quais podem produzir neutrófilos, macrófagos e osteoclastos, além de uma variedade de células progenitoras unipotentes que podem proliferar e transformar-se em células maduras de uma única linhagem (METCALF, 1998).

Estas células também podem ser detectadas em quantidade muito pequena em situação fisiológica, no sangue periférico. Quando mobilizadas, esta quantidade aumenta significativamente, podendo ser coletadas por técnicas de leucaférese, ser criopreservadas e destinadas a transplantes autólogos ou transplantadas "in natura" para receptores alogênicos, devendo ser capaz de enxertar e restaurar a hemopoiese após terapia mieloablativa (BERENSON et al, 1991; KESSINGER et al, 1988; WILLIAMS et al, 1990).

A quantificação das células progenitoras no sangue periférico e no produto da aférese, pode ser determinada através da contagem das unidades formadoras de colônias granulocítico-macrofágica (CFU-GM) por técnicas de cultura de células, sendo considerada boa preditora para a reconstituição hemopoiética após quimioterapia mieloablativa (JUTTNER et al, 1989). Porém, a informação é disponível somente após cerca de duas semanas.

O antígeno de superfície CD34, também identifica a população de células progenitoras, capazes de reconstituir hemopoiese, em humanos e animais letalmente irradiados ou tratados com terapia mieloablativa. Estas células, denominadas células CD34⁺, podem ser estimadas quantitativamente por citometria de fluxo (SIENA et al, 1991; D'ARENA et al, 1996), provendo informações comparáveis àquelas obtidas com ensaios de CFU-GM (D'ARENA, 1996), mas tendo a vantagem de poder ser conhecida em cerca de uma hora, evitando-se assim, a realização de procedimentos

de leucaféreses desnecessários, se a quantidade desejada de células progenitoras já foi atingida (D'ARENA et al, 1998).

Assim, o número de células CD34⁺, por kg de peso do paciente, tem sido o mais importante indicador para adequada recuperação da hemopoiese nos transplantes autólogos (BENSINGER et al, 1993; BENSINGER et al, 1994).

1.3. Mobilização das células progenitoras para o sangue periférico

Em seres humanos, em situação fisiológica após o nascimento, pouca quantidade de células progenitoras está presente no sangue periférico (McCREDIE et al, 1971), insuficiente para garantir recuperação hemopoiética após quimioterapia mieloablativa (HERSHKO et al, 1979). Já foi observado que estas células circulantes exibem alterações circadianas, com aumento aproximado de duas vezes a quantidade por mililitro de sangue no período da tarde em relação ao período da manhã (VERMA et al, 1980).

As observações de que as células progenitoras poderiam ser aumentadas no sangue periférico, através do fenômeno da mobilização, foram primeiramente descritas na década de 70, em pacientes durante a recuperação após quimioterapia mielossupressiva (RICHMAN, WEINER & YANKEE, 1976; LOHRMANN et al, 1979). Foi demonstrado também que, seguindo a administração de sulfato de Dextran a cães, e de endotoxina e adrenocorticotrofina e após intenso exercício físico para seres humanos saudáveis, havia um aumento significativo das células progenitoras circulantes. Apesar deste aumento ter sido somente de duas a quatro vezes, e o fato dos níveis retornarem ao valor basal em poucas horas e não ser suficientes para coletar quantidade efetiva de CPP por aférese, mostrou-se que a mobilização das

células progenitoras para o sangue periférico, é um fenômeno possível de se induzir (CLINE & GOLDE, 1977; BARRET et al, 1978).

A habilidade dos fatores de crescimento hemopoiético recombinante, isoladamente ou incrementando a mobilização induzida por quimioterapia, de multiplicar a quantidade de células progenitoras circulantes no sangue periférico, aumentou o uso das células mobilizadas para transplantes (GIANNI et al, 1989; FUKUDA et al, 1992). Porém, pouco é conhecido acerca dos mecanismos de mobilização das células normais e malignas, sendo que os protocolos, ainda permanecem empíricos (TO et al, 1997).

1.3.1. Biologia do fenômeno da mobilização

Em condições estáveis e normais, em ratos, há um equilíbrio entre o fluxo de entrada e saída das células progenitoras, também denominadas células formadoras de colônias granulocítico-macrofágicas (GM-CFC) dos sítios extravasculares para o sangue circulante. Estudos em cães envolvendo mobilização e leucaféreses, indicam que estas populações celulares são altamente intercambiáveis (ZANDER & COCKERILL, 1987).

Apesar de existir células progenitoras transplantáveis extramedulares (STARZL et al, 1993), acredita-se que as células progenitoras hemopoiéticas mobilizadas para o sangue periférico originam-se da medula óssea (TO et al, 1997). Já é conhecido que a hemopoiese ocorre na medula óssea pelo envolvimento de interações de adesividade reguladas, entre as células e o microambiente hemopoiético, mediada pelas células estromais. Em condições fisiológicas, acredita-se que esta adesividade seja responsável pela retenção das células progenitoras primitivas na medula óssea e, uma

perturbação destas interações, levaria ao fenômeno da mobilização para o sangue periférico (TO et al, 1997).

O papel das interações de adesividade entre as células hemopoiéticas primitivas e as células do estroma medular é pouco conhecido. Está claro, atualmente, que a adesão das células hemopoiéticas aos elementos estromais é mediado por um número de moléculas de adesão celular da família das integrinas $\beta 1$ e $\beta 2$, assim como das L-selectinas. Estas incluem a $\beta 1$ -integrina "very late antigen 4" (VLA-4) e a $\beta 2$ -integrina "leukocyte function-associated molecule-1" (LFA-1) (BELLUCCI et al, 1999). Ligações para muitas destas moléculas de adesão celular, são expressas pelas células estromais na medula óssea (TAVASSOLI & HARDY, 1990).

Há evidências que as moléculas de adesão celular podem estar envolvidas no processo da mobilização. Muitos autores demonstraram que as células CD34⁺ mobilizadas por vários regimes e citoquinas, apresentam reduzida expressão de certas moléculas de adesão celular em relação às células CD34⁺ medulares em condições fisiológicas, com conseqüente modificação da capacidade de adesão ao estroma medular (LUND & TERSTAPPEN, 1993; MOHLE, HAAS & HUNSTEIN, 1993).

Diversos estudos têm sugerido que, entre as muitas famílias de moléculas de adesão, a $\beta 1$ integrina VLA-4 e a L-selectina são provavelmente as mais envolvidas na adesão da célula progenitora à matriz extracelular e, que estas alterações na expressão do VLA-4, podem resultar na saída da medula óssea de um grande número de progenitores hemopoiéticos (BELLUCCI et al, 1999). Estudos animais *in vivo*, confirmaram o papel proeminente da VLA-4 na adesão dos progenitores hemopoiéticos ao estroma medular, pela pré-incubação de células medulares transplantadas com anticorpos para VLA-4, ou pela administração, *in vivo*, de um

bloqueador de adesão anti-VLA-4, o qual leva a uma dramática mobilização das células clonogênicas para o sangue periférico (WILLIAMS et al, 1991; PAPAYANNOPOULOU & NAKAMOTO, 1993).

As L-selectinas e as moléculas de adesão intercelular e vascular (VCAM-1 para VLA-4 e ICAM-4 para LFA-1), as quais correspondem aos sítios de ligações nas células endoteliais, mediam um papel crítico na ligação inicial e reversível dos progenitores ao estroma medular (BELLUCCI et al, 1999).

Em ensaios funcionais, o compartimento de células CD34⁺ expostas, *in vivo*, a 5 dias de administração de fatores de crescimento hemopoiético do tipo G-CSF, mostrou um decréscimo na expressão do VLA-4, LFA-1 e L-selectina, e uma aderência reduzida às células estromais, quando comparadas às células periféricas em situação fisiológica. Porém, a expressão do VLA-4 e da L-selectina nas células CD34⁺ não varia após incubação *in vitro*, por 5 dias, com G-CSF, o que indica que a complexidade deste sistema, refletido pela heterogeneidade dentro da população de células hemopoiéticas, pela variedade da matriz celular e extracelular e pelos mecanismos nos quais a adesão estromal é iniciada e estabilizada, necessita de métodos mais sensíveis para identificar as várias vias de adesão que podem estar envolvidas (BELLUCCI et al, 1999).

Não está completamente claro se as alterações funcionais das células CD34⁺, durante a mobilização, ocorrem com estas moléculas de adesão, as quais não alteram significativamente sua expressão nas células progenitoras mobilizadas e se, diferentes fatores de crescimento, induzem ao mesmo padrão de modificações fenotípicas e funcionais como o G-CSF (BELLUCCI et al, 1999). A co-expressão da LFA-1 e do antígeno CD33 nas células CD34⁺, tem sido recentemente investigado, sendo sugerido

que a expressão da LFA-1 deve distinguir duas sub-populações dentro das células CD34⁺/CD33⁻ (GUNJI et al, 1992). Outros estudos têm sugerido a possibilidade de que as moléculas de adesão possam ser expressadas em diferentes etapas da diferenciação da célula progenitora (TORESNMA et al, 1996), embora o grande número de antígenos a ser considerado e a variedade das moléculas de adesão expressadas durante a diferenciação das células progenitoras, tornam estes estudos de difícil interpretação (BELLUCCI et al, 1999).

Todos estes dados sugerem que a mobilização das células progenitoras periféricas pode, pelo menos em parte, resultar das alterações citoquino-induzidas, na função integrina nas células CD34⁺.

Apesar de ser um mecanismo desconhecido, tem sido reportado recentemente a observação de que a expressão c-kit está marcadamente reduzida nas células CD34⁺ mobilizadas para o sangue periférico, quando comparadas com os níveis das células CD34⁺ na medula óssea e no sangue periférico em seu estado basal (TO, et al, 1994; SIMMONS et al, 1994). CYNSHI et al (1991) demonstraram que, em ratos com mutações Steel ou WW, os quais perdem a habilidade para produzir o fator estimulador de célula progenitora (SCF), ou têm um receptor c-kit defeituoso, respectivamente, o G-CSF é muito menos eficiente para mobilizar células progenitoras que os ratos não mutantes. Sendo assim, a mobilização das células progenitoras em resposta ao G-CSF pode, de fato, ser uma resposta à ação conjunta do G-CSF com o SCF endógeno.

BELLUCCI et al (1999), analisando o imunofenótipo e o potencial clonogênico das células CD34⁺ do sangue periférico de doadores saudáveis, em condições fisiológicas e após mobilização com G-CSF, mostraram que o número de células

CD34⁺ no sangue periférico expostas, *in vivo*, a cinco dias de administração de G-CSF, aderiram às células estromais significativamente menos que as células CD34⁺ periféricas ou medulares em situação fisiológica.

Baseado em todos estes fatos, acredita-se que a melhor compreensão dos mecanismos de mobilização, poderá contribuir para o desenvolvimento de protocolos mais eficazes e previsíveis (TO et al, 1997).

1.3.2. Mobilização com quimioterapia

Durante a fase de recuperação da administração de quimioterapia não mieloablativa, o aumento do número de células CD34⁺ no sangue periférico já está bem documentado (RICHMAN et al, 1976).

Na década de 70, demonstrou-se uma elevação do número de CPP após quimioterapia convencional da ordem de cinco a dez vezes (JUTTNER et al, 1985). Três observações foram colhidas a partir deste estudo: a existência de recuperação hematológica sustentada com recuperação da neutropenia e da plaquetopenia precoces; a recuperação após quimioterapia mieloablativa, porém, com tempo de recuperação hematológica ainda muito longa e a demonstração de que um número de 50×10^4 Kg de CFU-GM promoviam a reconstituição hemopoiética completa e duradoura.

Estudos *in vitro* têm demonstrado que a atividade citotóxica de alguns fármacos são dirigidos aos precursores já comissionados, poupando os progenitores mais imaturos (TARELLA et al, 1991). Outros fármacos, no entanto, lesam precursores em fase G0, ou seja, não proliferantes. Exemplos importantes do primeiro grupo são a CY (TO et al, 1990), o VP-16 (GIANNI et al, 1992). No segundo grupo, estão o BCNU e o

Bussulfan. A utilização de CY em alta dosagem, apresentou uma coleta de CPP doze vezes maior do que em coletas não mobilizadas. Este fato introduziu o conceito de que quimioterapia mielotóxica poderia promover uma coleta de células progenitoras periféricas mais eficiente (GIANNI et al, 1992).

A CY, em particular, é um fármaco de amplo espectro com a melhor capacidade mobilizante e apresenta uma correlação positiva entre dose e coleta de CPP. Doses entre 4 e 7 g/m² são as de maior capacidade mobilizante (SANTINI et al, 1999). O VP-16, nas doses de 2 a 2,5 g/m², também apresentam esta capacidade (CARACCILO et al, 1993).

Outros regimes estão sendo utilizados, atualmente, para mobilização, em situações específicas, como o “mini-ICE”, para pacientes com LMC (CARELLA & FRASSONI, 1996) e o “DHAP”, para certos casos de LNH avançados (VELASQUEZ et al, 1988).

1.3.3. Mobilização com fatores de crescimento hemopoiético

BRADLEY & METCALF (1966) relataram que as células hemopoiéticas, imersas numa tenra matriz gelatinosa e recebendo meios condicionados, produziram colônias de células contendo neutrófilos e macrófagos maduros. Em estudos subseqüentes, os fatores envolvidos na iniciação e estímulo ao desenvolvimento das células formadoras de colônias, foram isolados e caracterizados, cuja natureza e atividades precisas ficaram incompletamente definidas durante vários anos. Entretanto, com o advento da melhor purificação e análise das proteínas, juntamente com o desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante, tornaram-se disponíveis grandes quantidades de fatores estimulantes de colônias, permitindo a melhor compreensão das propriedades

moleculares, fisiológicas e das características farmacológicas e terapêuticas dos fatores de crescimento hemopoiético (METCALF, 1990).

Atualmente, os fatores de crescimento hemopoiético estão representados por um número cada vez mais crescente de produtos gênicos distintos, sendo os mais difundidos para uso clínico, o G-CSF, o GM-CSF e o SCF. A produção industrial e a segurança clínica dos fatores estimuladores de colônias recombinantes, tornou possível seu uso, em larga escala, para o tratamento de pancitopenias graves seguindo quimioterapia mieloablativa e mobilização de células progenitoras para o sangue periférico.

BELLUCCI et al (1999) avaliaram a expressão fenotípica, atividade funcional e potencial clonogênico das células CD34⁺ no sangue periférico de 20 doadores normais em situação fisiológica e após administração de G-CSF, demonstrando que o G-CSF causou uma expansão do compartimento das células progenitoras periféricas tanto em termos de número absoluto de células CD34⁺ como no número de progenitores pluripotentes e mais diferenciados.

A utilização de fatores de crescimento hemopoiético para mobilizar células progenitoras para o sangue periférico, tanto em doadores normais como em pacientes, têm mostrado um crescimento de até 100 vezes o número de precursores, com doses variando entre 0,3 a 60 µgr/Kg/dia (DUHRSEN et al, 1988).

Em relação ao GM-CSF, os níveis de células progenitoras periféricas pode ser aumentado cerca de 18 vezes quando usado isoladamente e até 62,5 vezes quando associado a quimioterapia mobilizante (JUTTNER et al, 1988).

1.3.4. Mobilização com quimioterapia associado à fatores de crescimento hemopoiético

A quimioterapia foi primeiramente utilizada isoladamente para mobilizar células CD34⁺ (TO et al, 1990). Fatores de crescimento hemopoiético, como único agente, podem também mobilizar um número adequado de células CD34⁺ (DE LUCA, SHERIDAN & WATSON, 1992), mas a administração de quimioterapia seguida de fatores de crescimento hemopoiético, resultam em um efeito sinérgico, com aumento da mobilização das células progenitoras para o sangue periférico (RICHMAN et al, 1976; SIENA et al, 1989; HAAS et al, 1992; BOIRON et al, 1993).

A associação de CY ou VP-16 com G ou GM-CSF em LNH agressivos, levaram à recomposição rápida, em termos de neutrófilos maior que 0,5 e 1,0 x 10⁹/L (9 e 10 dias respectivamente); plaquetas maior que 50 x 10⁹/Litro de 11 dias e redução da mucosite (GIANNI et al, 1989). A racionalidade deste procedimento está em promover a redução da massa tumoral obtida pelo citostático, e uma coleta eficiente, obtida pela associação com o fator de crescimento (SIENA et al, 1994).

Atualmente, esquemas de mobilização utilizando-se altas doses de CY (4 ou 7 g/m²) seguidas por fatores de crescimento hemopoiético recombinantes, são os mais amplamente utilizados (DREYFUS et al, 1992; TARELLA et al, 1991; GOLDSCHIMIDT et al, 1996), porém, o regime mais efetivo, e a intensidade mais adequada da quimioterapia de mobilização, permanecem ainda a ser definidos (KETTERER et al, 1998).

O salto da quimioterapia convencional, para a megaquimioterapia em dose escalonada e o transplante autólogo com a utilização de CPP, mobilizadas durante a terapêutica com alta dose de CY ou VP-16 é, de fato, o grande avanço, hoje

disponível, para a terapêutica de salvamento nos linfomas e outros tumores, assim como parte da primeira linha, em pacientes com alto risco de recidiva (DE SOUZA & MARQUES, 1999).

1.3.5. Fatores que influenciam o fenômeno da mobilização

Cada paciente, responde diferentemente à mobilização das células progenitoras para a circulação periférica. A obtenção da célula progenitora mobilizada parece ser afetada pelo diagnóstico (SHIMAZAKI et al, 1995; HAAS et al, 1994), tempo entre o diagnóstico e a coleta, duração cumulativa de regimes quimioterápicos prévios, administração prolongada de agentes alquilantes, tratamento utilizando fludarabina (KETTERER et al, 1998), duração prolongada de tratamentos prévios, grande número de ciclos quimioterápicos anteriores, doses cumulativas de ciclofosfamida (BENSINGER et al, 1995; HAAS et al, 1994; GOLDSCHIMIDT et al, 1997) e história prévia de radioterapia (BENSINGER et al, 1995; DREGER et al, 1995). A importância de outros parâmetros, como o tipo de doença ou o envolvimento infiltrativo da medula óssea, não estão ainda definidos (HAAS, et al, 1994; KOTASEK et al, 1992; WATTS et al, 1997).

Pacientes anteriormente tratados com quimioterapia, demonstram influência negativa para mobilização e coleta de células CD34⁺, muitas vezes apresentando alterações mielodisplásicas (D'ARENA et al, 1996; GORDON & BLACKETT, 1995; GIANNI, 1994; TO et al, 1990; NOROL et al, 1993; BENSINGER et al, 1993; HAAS et al, 1994; LIN et al, 1998; MOSKOWITZ et al, 1998). O mesmo acontece em pacientes que já receberam radioterapia anterior à mobilização (NOROL et al, 1993; BENSINGER et al, 1993; BENSINGER et al, 1995).

Estes dados leva-nos à acreditar que, danos prévios às células tronco e lesões estromais devido à prévia quimioterapia, podem explicar, pelo menos em parte, a freqüente pobre mobilização quantitativa visto em alguns pacientes (TO et al, 1993), por prejudicar o rebote hemopoiético durante recuperação da mielossupressão.

Desta forma, preconiza-se que a CPP, deva ser mobilizada e coletada o mais precocemente possível, dentro do contexto da história cronológica da doença, pois, o tratamento, prejudica coletas futuras, sendo aconselhável a coleta precoce, se possível, para repetidos transplantes (LONG et al, 1995).

1.4. Coleta das CPP

A coleta de quantidade suficiente de CPP para se assegurar rápida e sustentada hemopoiese após quimioterapia mieloablativa, requer procedimentos de leucaféreses, geralmente realizados em dias consecutivos, quando, através da indução do processo de mobilização, as células progenitoras estão em quantidade aumentada no sangue periférico.

1.4.1. Hemaféreses

O termo hemaférese, em medicina, significa a separação e a retenção de um componente sangüíneo, com retorno ao doador ou paciente, dos componentes remanescentes. A perspectiva de uma grande variedade de aplicações clínicas, resultou no desenvolvimento tecnológico de equipamentos cada vez mais sofisticados e seguros, tanto para o tratamento de diversas doenças, como para a coleta de componentes hemoterápicos, destinados à transfusões.

O princípio dos equipamentos de hemaférese é baseado no processamento do sangue em um circuito extra-corpóreo, separando os diversos componentes por métodos de centrifugação e/ou filtração. A centrifugação é mais amplamente usada para separação e retenção de um componente, como por exemplo, concentrado de plaquetas. Já a filtração, é empregada no sentido de reter uma substância específica, como anticorpos.

A separação dos diversos componentes do sangue por centrifugação, é possível pela diferente densidade existente entre eles. Esta propriedade é regida pela lei de Stokes, a qual descreve o princípio físico do comportamento de partículas esféricas imersas em um líquido viscoso e submetido a um campo gravitacional, modificada para as condições do sangue, por Hawksley e Vand (MARCONI, 1985).

Os equipamentos de hemaférese por centrifugação, podem ser de fluxo contínuo ou descontínuo. Os equipamentos de fluxo contínuo são, geralmente, mais avançados, permitindo procedimentos mais qualificados, rápidos e com maior estabilidade hemodinâmica.

Uma das modalidades aplicativas destes equipamentos é a realização de procedimentos de coleta de CPP destinadas a transplantes, autólogos ou alogênicos.

A possibilidade de se coletar células progenitoras hemopoiéticas a partir da circulação periférica, por leucaférese, foi primeiramente demonstrada, em indivíduos normais, por KORBLING, FLIEDNER & PFLIEGER (1980) e, como dito anteriormente, desde 1993, as células sangüíneas têm sido usadas mais freqüentemente que as medulares em transplantes autólogos.

Com o avanço da tecnologia, e com o aumento da segurança dos procedimentos, está sendo empregada a coleta de CPP por hemaférese até em

crianças de baixo peso, isto é, menos de 20 Kg, com mínima morbidade (TAKAUE et al, 1995; LEIBUNDGUT et al, 1995).

1.4.2. Quantidade de células progenitoras necessárias para enxertamento

Já foi demonstrado que entre $0,1$ a $0,5 \times 10^8$ células nucleadas de medula óssea por kg, foram capazes de reconstituir a hemopoiese, após irradiação supraletal e, com amostras contendo acima de $0,5 \times 10^8$ células nucleadas por Kg, todos os animais sobreviveram ao procedimento de transplante (GORIN et al, 1978; APPELBAUM et al, 1978). Quando se utilizam leucócitos periféricos como método de resgate após o tratamento mieloablativo, a maioria dos estudos encontraram que 3 a 6×10^8 células nucleadas por kg, são suficientes para completa reconstituição hemopoiética (NOTHDURFT et al, 1978; ZANDER et al, 1984).

Após, com a possibilidade de quantificação das GM-CFC, foi proposto, primordialmente, que a quantidade mínima destas células, deveria estar entre $0,2$ e $2,0 \times 10^4$ por kg, para se conseguir enxertamento seguro e eficaz (ZANDER & COCKERILL, 1987).

JUTTNER et al (1989), estudando 13 pacientes portadores de leucemia mielóide aguda submetidos a transplante autólogo com CPP, estabeleceu que, apesar do enxertamento inicial ser rápido com doses menores, a dose mínima de CFU-GM requerida para sustentada reconstituição hemopoiética, deveria ser de 50×10^4 por kg.

Como dito anteriormente, o número de células $CD34^+$, por kg do paciente, tem sido, atualmente, o mais importante indicador para adequada recuperação da hemopoiese nos transplantes autólogos. Algumas controvérsias ainda existem acerca da quantidade destas células que deveria ser infundida para um enxertamento seguro

após o transplante. Trabalhos foram publicados indicando que a quantidade destas células deveria estar entre 2,2 e $2,5 \times 10^6/\text{Kg}$ (KORBLING et al, 1995), mínima de $2,5 \times 10^6/\text{Kg}$ (HAAS et al, 1994), mínima de $2,9 \times 10^6/\text{Kg}$ (PASSOS-COELHO et al, 1995) e mínima de $5 \times 10^6/\text{Kg}$ (TRICOT et al, 1995). Porém, mais recentemente, tem sido observado que doses de CD34^+ menores que 5×10^6 células/Kg, apesar de freqüentemente ser de sucesso, expõe uma fração de pacientes ao risco de reconstituição plaquetária tardia ou defeituosa, sendo este valor, o atualmente requerido para se considerar suficiente coleta de células CD34^+ para transplante na maioria dos centros de transplantes (D'ARENA, 1998).

1.4.3. Parâmetros para determinar a época da coleta das CPP

Vários critérios, incluindo a contagem leucocitária periférica absoluta, a cinética da recuperação leucocitária, a contagem plaquetária e a concentração de células CD34^+ circulantes, têm sido demonstrados ser importantes para definirmos a época ideal para a realização de leucaféreses, visando a coleta de CPP para transplante autólogo (TO et al, 1992; KOTASEK et al, 1992; HANSSON et al, 1995; CAGNONI & SHPALL, 1996; GIANNI et al, 1989; SIENA et al, 1989).

O aumento das células progenitoras na circulação periférica, induzido pelo processo de mobilização, é de curta duração, sendo, portanto, imperativo concentrar os procedimentos de leucaféreses neste período. Já foi demonstrado que o pico das contagens de CFU-GM e de células CD34^+ , não é atingido até que a contagem leucocitária chegue a $10,0 \times 10^9/\text{L}$, após o "nadir", durante a aplasia induzida pela quimioterapia de mobilização, recomendando-se, para se evitar a realização desnecessária de procedimentos, que a coleta por leucaféreses deveria se iniciar

quando a contagem leucocitária aproximasse destas cifras (DREGER et al, 1993). Mais recentemente, estudos demonstram que quando a contagem leucocitária periférica atinge $1,0 \times 10^9/L$, quantidade suficiente de células $CD34^+$ pode ser coletada por leucaféreses (D'ARENA et al, 1998).

Desta maneira, foi proposto que os procedimentos de coleta devam começar a ser realizados quando a contagem leucocitária, após a aplasia induzida pela quimioterapia de mobilização, chegue a $1,0 \times 10^9/L$ ou ainda, quando a quantidade de células $CD34^+$ for maior que $20/\mu L$ na circulação periférica, sendo atualmente, o protocolo mais utilizado na prática clínica (HAAS et al, 1994; D'ARENA, MUSTO, CAROTENUTO, 1997; D'ARENA, 1998).

Conclui-se daí, que a determinação diária das células $CD34^+$ circulantes por citometria de fluxo, é a melhor ferramenta para orientar um programa de leucaférese para coleta de CPP em pacientes.

Em relação aos equipamentos de hemaféreses, JUTTNER et al (1989) demonstraram que coletas de CPP realizadas com equipamentos controlados por computador, são significativamente mais efetivas que quando realizadas com equipamentos de geração anterior. Em sua casuística, 15 de 20 pacientes (75%) portadores de leucemia mieloide aguda em remissão precoce, submetidos a procedimentos de coleta de CPP em equipamento Fenwall CS 3000, coletou-se mais de 50×10^4 CFU-GM por Kg. Em contrapartida, somente dois de 10 pacientes (20%) submetidos a procedimentos em equipamento Aminco-centrifuge, esta quantidade foi alcançada, concluindo que os equipamentos mais modernos podem coletar quantidade adequada de CPP, com poucos procedimentos.

Assim, a tendência, atualmente, é de realizar o mínimo de procedimentos de leucaféreses, processando-se o máximo de volume sangüíneo por procedimento, em época estratégica (AZEVEDO et al, 1995; NEGRIN et al, 1995; NAKAGAWA et al, 1995; KOHNO et al, 1995; LANE et al, 1995; KOBAYASHI et al, 1995; SCHWELLA et al, 1995, VIGORITO et al, 1997; MARQUES & DE SOUZA, 1998).

1.4.4. Fatores preditivos para a coleta das CPP

Diversas relações estão sendo propostas no sentido de se definir os fatores que afetam a coleta de células CD34⁺.

DE ARRIBA et al (1995) realizou leucaféreses diárias em nove pacientes estimulados com G-CSF, e concluiu que o conteúdo dos produtos das aféreses, em termos de quantidade de células CD34⁺, correlacionou positivamente com o número destas células circulantes no sangue periférico.

SCHWELLA et al (1995), publicou um estudo sobre o valor preditivo de contagens celulares sangüíneas pré-procedimento de leucaférese, sobre as células progenitoras coletadas, e a correlação entre a quantidade de células reinfundidas e a reconstituição hemopoiética, em pacientes submetidos a transplante autólogo. Foram analisados 109 pacientes portadores de neoplasias, submetidos a 285 procedimentos de leucaféreses, sendo realizados 2 a 5 procedimentos de leucaférese por paciente. Os autores concluíram que o valor preditivo, pode ser útil para se definir a melhor época para se iniciar a realização dos procedimentos, além de predizer a quantidade de CPP, a ser coletada em um único procedimento.

Diversos outros trabalhos, demonstraram correlação entre a contagem das células CD34⁺ circulantes, pré-procedimento, e a quantidade das células CD34⁺

coletada (D'ARENA et al, 1998; YU et al, 1999; SANTOIS et al, 1999; SHIMIZU et al, 1998; AUER et al, 1998). D'ARENA et al (1998), demonstrou que a correlação das células CD34⁺, pré-procedimento, com a quantidade destas células coletadas, só é válida, quando a sua determinação pré-procedimento é realizada no mesmo dia da coleta. Também demonstrou que não há correlação entre o número total de leucócitos ou de células mononucleares circulantes, pré-procedimento, com a quantidade de células CD34⁺ no produto.

FORD, PACE & LEHMAN (1998) publicaram, recentemente, estudo acerca da eficiência da coleta de células CD34⁺, no sentido da identificação dos fatores preditivos. Demonstraram que a eficiência da coleta correlacionou-se inversamente com a contagem leucocitária periférica, hematócrito e concentração de albumina sérica pré-procedimento. Interessantemente, o grupo relacionado com citopenias mais evidentes, ou seja, composto por pacientes com mais quimioterapia anterior, infiltração da medula óssea e mobilização com quimioterapia associado a fator de crescimento hemopoético, mostrou maior eficiência de coleta de células CD34⁺, sugerindo certas atitudes, como por exemplo, transfundir mais tardiamente concentrado de hemácias nos pacientes durante o período da mobilização.

1.5. Racionalidade do estudo

A racionalidade para a realização deste estudo, foi a de determinar os fatores que possam influenciar a mobilização e a coleta das CPP em pacientes onco-hematológicos, como a quantidade de ciclos de quimioterapia recebidas anteriormente, o antecedente de radioterapia, o tipo de quimioterapia de mobilização, entre outros, além de identificar possíveis fatores preditivos para coleta eficaz destas células, e,

avaliar o impacto da leucaférese para os dados hematológicos dos pacientes, no sentido de melhorar a qualidade do produto de hemaférese e a segurança do procedimento.

II. Objetivos

- Estudar, em uma população brasileira de pacientes portadores de hemopatias malignas, a mobilização e a coleta, por método de leucaféreses, das células progenitoras hemopoiéticas a partir do sangue periférico.
- Estudar o processo de mobilização e definir possíveis valores preditivos para a eficiência da coleta das células progenitoras hemopoiéticas periféricas em pacientes onco-hematológicos.
- Estabelecer correlações que nos permitam implantar melhorias nos protocolos vigentes, identificando fatores que influenciam, positiva ou negativamente, a eficácia da coleta das células progenitoras hemopoiéticas a partir do sangue periférico.
- Realizar análise crítica sobre os dados obtidos, que possam esclarecer e contribuir para melhorar a estratégia de coleta das células progenitoras hemopoiéticas periféricas por leucaféreses em pacientes onco-hematológicos, em nosso meio.

III. Casuística e Métodos

III.1. Elegibilidade

O início do estudo ocorreu em janeiro de 1998, e o término da coleta de dados, em agosto de 1999, sendo efetuado em pacientes portadores de doenças hematológicas malignas e inseridos, consecutivamente, para tratamento através de megaquimioterapia seqüencial, seguido do transplante autólogo de células progenitoras hemopoiéticas, seguindo os Protocolos Institucionais. Explicações detalhadas acerca dos procedimentos de mobilização e coleta das células progenitoras hemopoiéticas, a partir do sangue periférico, por método de leucaféreses e suas potenciais complicações, foram fornecidas aos pacientes. Termo de consentimento informado foi obtido de todos os pacientes envolvidos, utilizando-se protocolos e impressos, de acordo com nossas regulamentações Institucionais (anexo I).

Os critérios de inclusão dos pacientes são especificados a seguir:

- Idade: Pacientes com menos de 60 anos, com exceção dos portadores de mieloma múltiplo, de até 65 anos;
- Peso: O peso mínimo foi de 30 Kg;
- Pacientes com diagnóstico confirmado de Doença de Hodgkin, Linfoma Não-Hodgkin, Mieloma múltiplo ou Leucemia mielóide crônica;
- "ECOG performance status" 0 – 2, funções cardíaca, renal, pulmonar e hepática normais;
- Sorologias negativas para HIV, HTLV-I, Hepatites virais B e C.
- Condições clínicas: Pacientes aptos a suportar todo o procedimento de transplante como um todo. Febre no momento, ou nos dias que antecederam os procedimentos de coleta, não foi contra-indicação para as leucaféreses. Nestes

casos, hemoculturas com antibiograma foram coletadas e, no caso de positividade, foi administrado ao paciente antibióticos adequados, quando da ocasião do descongelamento e reinfusão destas células. No caso de negatividade da hemocultura, foi realizada a profilaxia antibiótica conforme protocolo em vigor.

Uma vez caracterizada a indicação do tratamento através de transplante de células progenitoras, os pacientes foram submetidos a quimioterapia de mobilização, de acordo com o diagnóstico e quadro evolutivo, e receberam fator de crescimento hemopoiético, diariamente, até o último procedimento de leucaférese.

III.2. Regime de mobilização

A fase de mobilização das células progenitoras hemopoiéticas para o sangue periférico, foi definida como o período entre o dia da administração da quimioterapia mobilizante, definido como dia zero, até o dia do último procedimento de coleta por leucaférese.

O processo de mobilização nos pacientes, foi induzido através de esquemas quimioterápicos conforme o diagnóstico, tipo histológico e estadio clínico, seguido da administração de fatores de crescimento hemopoiético (rhG-CSF - Granulokine^R, Roche, São Paulo, Brasil, ou rhGM-CSF - Leucomax^R, Novartis Biociências, São Paulo, Brasil), conforme disponibilidade do serviço.

O esquema quimioterápico utilizado para a mobilização foi um dos seguintes: CY 4 ou 7g/m², divididos em três ou cinco doses, respectivamente (SANTINI et al, 1999), "DHAP" (VELASQUEZ et al, 1988), VP-16, 2g/m² (CARACCILO et al, 1993) ou "Mini-Ice" (CARELLA & FRASSONI, 1996).

Os pacientes receberam fator de crescimento hemopoiético a partir do dia seguinte à quimioterapia de mobilização, por via subcutânea, na dose de $10\mu\text{g/Kg/dia}$, diariamente, até o último dia de coleta por leucaférese, inclusive. Nos pacientes portadores de LMC, o fator de crescimento foi iniciado no oitavo dia após o término da quimioterapia de mobilização (CARELLA & FRASSONI, 1996).

Por se tratarem de pacientes que, invariavelmente, já foram submetidos a sessões de quimioterapia endovenosa, preconizou-se instalação de catéter tunelizado de duplo lúmen, calibroso, tipo Hickman, calibre 13,5 (Bard Access Systems, Salt Lake City, Utah, USA), no sentido de se promover tanto a administração da quimioterapia de mobilização e de medicamentos e componentes sanguíneos, como a realização do procedimento de leucaférese, com maior facilidade técnica.

As complicações durante o período de mobilização, foram observadas a partir de avaliações clínicas e laboratoriais diárias.

A recuperação dos leucócitos e plaquetas, após a aplasia induzida pela quimioterapia de mobilização, foi definida através da sua determinação diária. Foram preconizados os valores "cortes" de ascensão, após o "nadir", de $1,0 \times 10^9/\text{L}$ de leucócitos e de $50,0 \times 10^9/\text{L}$ de plaquetas, respectivamente.

O tempo de hospitalização foi definido como os dias decorridos entre a administração da quimioterapia de mobilização e a alta hospitalar. Os procedimentos realizados a nível ambulatorial, foram identificados pelo número zero.

III.3. Cuidados de suporte

Os pacientes receberam, durante o período de mobilização, fluconazol na dose de 200 mg/dia por via oral, como profilaxia para infecções fúngicas e ciprofloxacina, na dose de 500 a 1000 mg/dia por via oral, como profilaxia de infecções bacterianas oportunistas. Em caso de quadro febril, os pacientes foram tratados de acordo com nosso protocolo Institucional, usando Cefepime, como tratamento de primeira linha, e ajustando a antibioticoterapia de acordo com a positividade das culturas microbiológicas. Cuidados constantes pela equipe de enfermagem e profilaxia da síndrome da lise tumoral com allopurinol 300 mg/dia, hidratação, alcalinização, etc também foram tomados.

Os pacientes receberam concentrado de hemácias deleucocitados quando o nível de hemoglobina apresentou queda, ficando abaixo de 8,0 g/dL. Concentrados plaquetários, randomizados ou obtidos por aféreses, foram transfundidos, profilaticamente, quando a contagem plaquetária apresentou nível inferior a $10 \times 10^9/L$ ou, em situações com febre, nível inferior a $20 \times 10^9/L$. Também foram indicados na ocorrência de complicações hemorrágicas ou procedimentos invasivos. Todos os produtos sanguíneos foram irradiados com 20 Gy.

Durante todo o procedimento de leucaférese, os pacientes permaneceram com monitorização cardíaca, ficando em repouso, após o término por, no mínimo, 40 minutos. Os procedimentos não foram realizados em jejum.

A determinação da pressão arterial, do pulso radial, da frequência respiratória e da temperatura, foram realizadas imediatamente antes e após e, quantas vezes fossem necessárias, durante o procedimento.

A quantificação da transfusão de concentrado de hemácias, referiu-se ao número de unidades transfundidas no período de mobilização, e da transfusão de concentrado de plaquetas, ao número de episódios transfusionais, neste mesmo período.

III.4. Coleta das CPP

Os procedimentos de leucaféreses foram iniciados quando a contagem leucocitária periférica chegou a $1,0 \times 10^9/L$, após o período de aplasia induzida pela quimioterapia de mobilização. O alvo foi coletar mais que $5,0 \times 10^6$ células $CD34^+/Kg$ peso do paciente. Nos pacientes portadores de LMC, as leucaféreses foram iniciadas quando a contagem leucocitária, após o "nadir", alcançou $0,8 \times 10^9/L$ (CARELLA & FRASSONI, 1996). Quando os leucócitos não caíram abaixo de $1,0 \times 10^9/L$, as leucaféreses foram iniciadas no dia seguinte à menor contagem. A administração diária dos fatores de crescimento hemopoiético foi interrompida após realizada a última leucaférese.

Os procedimentos foram interrompidos em uma das três situações: quando se atingiu o alvo de $5,0 \times 10^6$ células $CD34^+/Kg$ peso do paciente; quando a contagem leucocitária pré-procedimento chegou a $30,0 \times 10^9/L$ ou quando a contagem de células $CD34^+$, pré-procedimento, diminuiu ou foi persistentemente baixa.

Baseado no número de células $CD34^+$ coletadas, nós consideramos os pacientes como bons mobilizadores, quando foi possível coletar mais que o alvo desejado de $5,0 \times 10^6$ células $/Kg$, e como médios e maus mobilizadores, quando somente de $2,0$ a $5,0 \times 10^6$ células $/Kg$ e abaixo de $2,0 \times 10^6$ células $/Kg$ puderam ser coletadas, respectivamente.

A escolha dos equipamentos se deu aleatoriamente, conforme disponibilidade dos mesmos na Seção de Procedimentos Especializados do Hemocentro da UNICAMP, durante o período de estudo, sendo todos por fluxo contínuo.

Os equipamentos utilizados para a realização dos procedimentos de leucaféreses foram:

(a) Dideco Vivacell modelo BT-798 CE/A (Mirandola, Italy), kit 460F-405, que consiste em uma separadora de células sangüíneas por fluxo contínuo, dotada de função automática de cálculo do volume sangüíneo e balanço dos fluidos coletado e infundido, porém, necessitando de controle manual constante do operador durante todo o período da coleta. Este controle é feito através de uma câmera de vídeo acoplada à câmara de separação.

(b) Baxter CS3000 Plus (Fenwall Laboratories, Deerfield, IL, USA), câmaras SVCC/Granulo, que consiste em uma separadora automática de fluxo contínuo, com duas câmaras seqüenciais de separação e controle computadorizado do processo de coleta.

(c) Fresenius AS 104 (Fresenius, Schweinfurt, Germany), Kit C4Y, programa PBSC/LYM, que consiste em uma separadora automática de fluxo contínuo, caracterizada por apresentar um sistema de cinta acoplada a uma centrífuga. Todo o processo de separação é submetido a controle automático através de um sistema de interface, e é dotado de vários detetores de sensibilidade e monitores.

As técnicas detalhadas para a realização dos procedimentos em cada equipamento, são descritas nos anexos II, III, IV).

Foi utilizado a solução anti-coagulante ACD fórmula A (Citrato de sódio 2H₂O: 22g/L; Glicose H₂O: 24,5g/L; Ácido cítrico: 7,3g/L), sem heparina, infundida em

proporção de 1:10 em relação ao sangue retirado, sendo esta proporção reduzida durante o procedimento até 1:16.

O fluxo sangüíneo de retirada variou de 40 a 70 ml por minuto, dependendo das condições do catéter e do conforto do paciente, sendo processado até 14 Litros de volume sangüíneo por sessão.

O controle de qualidade do concentrado de CPP, foi feito através da determinação da hemoglobina, da contagem leucocitária global e específica, da contagem das plaquetas e da determinação da quantidade de células CD34⁺, além da cultura bacteriológica de todos os concentrados produzidos. Logo após serem coletados, estes concentrados foram encaminhados para o laboratório de criobiologia, para preparação e congelamento.

Os parâmetros quantitativos pré e pós-procedimento e do produto, foram determinados tanto no sentido de avaliarmos o impacto do procedimento no paciente, como de quantificarmos cada elemento no produto. Os principais cálculos efetuados foram:

- Queda de plaquetas (%): $1 - (\text{contagem de plaquetas pós-procedimento} / \text{contagem de plaquetas pré-procedimento})$.
- Volume processado menos anticoagulante (ml): Volume processado visualizado no "display" do equipamento – (Volume processado visualizado no "display" do equipamento vezes concentração média do anticoagulante).
- Eficiência (%): Quantidade total de determinada célula no produto, dividida pelo produto da média pré e pós-procedimento desta célula com o volume processado menos o anticoagulante.

- Seletividade (número absoluto): Razão entre a porcentagem de células específicas em relação ao total de células nucleadas, nas amostras pré-procedimento e produto.
- Quantidade total de células obtidas (número absoluto): Concentração de determinada célula, multiplicada pelo volume do produto.
- Quantidade de células por Kg do paciente: Quantidade total de determinada célula, dividida pelo peso do paciente, em Kg.

III.5. Contagens celulares e quantificação das células CD34⁺

Os pacientes foram submetidos, diariamente, à contagem das células sanguíneas periféricas e células CD34⁺ durante todo o período da mobilização, e imediatamente pré e pós cada procedimento de leucaférese. Estas determinações também foram realizadas nos concentrados de CPP.

As contagens celulares e plaquetárias foram realizadas por analisador hematológico automático ABBOTT – Cell-Dyn®, modelo 1600 (Unipath, Mountain View Ca-USA). Nestas amostras, não foram realizadas as contagens diferenciais por observador humano.

A quantificação das células CD34⁺ foi determinada por citometria de fluxo, como previamente descrita por SUTHERLAND et al (1994). As amostras dos pacientes e do produto, foram diluídas para obtenção de $5,0 \times 10^6$ células e incubadas em tubos Falcon contendo os anticorpos monoclonais específicos, durante 30 minutos em câmara escura. A marcação ocorreu adicionando-se anticorpo monoclonal CD14 conjugado a FITC (Becton & Dickinson, San Jose, CA, USA), simultaneamente com o anticorpo controle IgG1 conjugado a PE (Becton & Dickinson). No tubo CD34

adicionou-se anticorpo monoclonal CD14/FITC e o anticorpo monoclonal CD34 HPCA2/PE. Após a incubação, foi adicionada solução tampão lisante de células vermelhas em cada tubo e deixadas à temperatura ambiente por 15 minutos, sendo lavadas duas vezes com tampão PBS em centrífuga Beckman (Palo Alto, CA, USA) a 1800 rpm por 10 minutos. As células foram ressuspensas em solução tampão PBS e analisadas no citômetro de fluxo modelo FACscalibur (Becton & Dickinson). A compensação do aparelho foi realizada com *calibration beads* (Becton & Dickinson) e os dados foram coletados utilizando-se parâmetros de dispersão frontal (forward scatter – FSC) em escala linear, dispersão 90 graus (*side scatter* – SSC), também em escala linear e fluorescência FL-1/FITC e FL-2/PE em escala logarítmica (MASSUMOTO *et al.*, 1997).

III.6. Análise estatística

Todos os dados foram analisados utilizando-se métodos estatísticos descritivos, com tabelas de frequência e medidas de posição e dispersão, e estatísticas de ordem (quantis), com box-plots, histogramas, ajuste pela curva Gaussiana (tipo “goodness-of-fit”). Análise univariada foi obtida para idade, diagnóstico, tipo de regime quimioterápico de mobilização, tipo de fator de crescimento administrado (G ou GM-CSF), número de linhas quimioterápicas prévias, antecedentes de radioterapia, dias para a recuperação leucocitária atingir $1,0 \times 10^9$ leucócitos/L, após aplasia induzida pela quimioterapia de mobilização, e número de procedimentos de leucaféreses necessários para se obter a quantidade desejada de células CD34⁺. A análise multivariada foi realizada por análise de variância (ANOVA). Correlação de Pearson foi

utilizada para agrupar variáveis e correlação parcial foi feita para identificar a possibilidade de efeitos indesejáveis na correlação múltipla.

As variáveis “número de procedimentos de leucaféreses” e “dias de recuperação leucocitária”, tiveram uma distribuição de Poisson, e foram transformadas para distribuição Gaussiana e, assim, pudemos analisar as regressões entre as duas variáveis e, também, considerar os efeitos de outras variáveis como diagnóstico, quimioterapia de mobilização, etc. Pela criação de uma curva Gaussiana bivariada para este par de variáveis, foi possível fazer uma predição desta associação, utilizando-se as curvas de nível, com suas probabilidades associadas, estabelecendo-se a relação entre os dados e os valores preditos.

Os pacientes foram divididos em dois grupos, de acordo com a quantidade de células CD34⁺ coletadas, sendo o ponto de corte, a quantidade total de $5,0 \times 10^6$ células CD34⁺/Kg do paciente.

O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar os dados hematológicos pré e pós-procedimento, para se estabelecer o seu impacto no paciente.

Todos os cálculos foram realizados com os softwares comercialmente disponíveis Splus versão 4.5 e SPSS. O nível de significância adotado foi de 5% (ARMITAGE & BERRY, 1994; RAO, 1995).

IV. Resultados

IV.1. Características dos pacientes

No período de janeiro de 1998 a agosto de 1999, foram estudados, seqüencialmente, 41 pacientes acometidos de neoplasias hematológicas malignas submetidos à mobilização e coleta de CPP, no Centro de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, com o objetivo de realizar transplante autólogo utilizando estas células como fonte de resgate após quimioterapia de alta dose. Todos os pacientes submetidos aos procedimentos de mobilização e coleta foram elegíveis para o estudo. A Tabela 1 resume as principais características dos pacientes. Foram incluídos vinte e seis pacientes (63,4%) do sexo masculino e 15 (36,6%), do sexo feminino, com mediana de idade de 35 anos (12 – 59), e do peso corporal de 60 Kg (41-100). Vinte e um pacientes (51,2%) eram portadores de LNH; 15 (36,6%), DH; dois (4,9%), LMC e três (7,3%), MM. A mediana das dosagens de Lactato desidrogenase (LDH), na época da mobilização, foi de 328 U/L (128 – 1200). A mediana de linhas quimioterápicas recebidas previamente pelos pacientes portadores de linfomas e mieloma, foi duas (1 – 4), sendo que, 18 pacientes (46,2%), foram mobilizados, como parte do tratamento de primeira linha e, 21 pacientes (53,8%), como salvamento. Os dois pacientes acometidos de LMC, foram tratados previamente com Hydroxiuréia e Interferon. Vinte e sete pacientes (65,9%) já haviam recebido tratamento radioterápico anterior aos procedimentos de mobilização e coleta das CPP. Seis pacientes (14,6%) apresentavam infiltração medular pela doença de base na época da mobilização, sendo quatro portadores de LNH e dois, de DH. Todos os pacientes portadores de MM e LMC, obviamente, apresentavam comprometimento medular.

Tabela 1: Característica dos pacientes submetidos a mobilização e coleta de CPP.

Característica	Pacientes (n=41)
Idade (anos)*	35 (12 – 59)
Sexo (M/F)	26 / 15
Peso (Kg)*	60 (41 – 100)
Diagnóstico	
Linfoma não-Hodgkin	21 (51,2%)
Doença de Hodgkin	15 (36,6%)
Leucemia mielóide crônica	2 (4,9%)
Mieloma múltiplo	3 (7,3%)
Lactato desidrogenase pré mobilização (U/L)	328 (128 – 1200)
Linhas quimioterápicas prévias*	2 (1 – 4)
Tratamento de primeira linha	20 (48,8%)
Tratamento de salvamento	21 (51,2%)
Radioterapia (S/N)	27 / 14
Infiltração medular	
Linfoma não-Hodgkin	4 (19%)
Doença de Hodgkin	2 (13,3%)

* mediana (variação); M: masculino, F: feminino; S – sim, N – não

Dos vinte e um pacientes portadores de LNH, um (4,8%) apresentava estadió clínico IA; um (4,8%), IIA; um (4,8%), IIB; um (4,8%), IIIA; três (14,3%), IIIB; quatro (19,0%), IVA, e dez (47,6%), IVB, incluídos neste grupo, um IVB com infiltração esplênica; um IVB, mediastinal, e um, "Bulky" de mediastino.

Dos quinze pacientes portadores de DH, um (6,7%), apresentava estadió clínico IA; um (6,7%), IB; quatro (26,7%), IIA; um (6,7%), IIB mediastinal; um (6,7%), IIIA; um (6,7%), IIIB; um (6,7%), IVA e cinco (33,3%), IVB.

Todos os pacientes portadores de MM foram estadió IIIA, segundo a classificação de DURIE & SALMON (1975).

Os dados individuais dos pacientes estão no anexo V.

IV.2. Regimes de mobilização

O resumo dos dados do regime de mobilização utilizado, é mostrado na Tabela 2. Todos os pacientes foram mobilizados usando quimioterapia, associada a fator de crescimento hemopoiético. Vinte e quatro pacientes (58,5%), receberam CY, 7 g/m², dividido em 5 doses, em apenas um dia. Treze pacientes (31,7%), receberam CY, 4 g/m² dividido em 3 doses, em um dia, e quatro pacientes (9,8%), receberam outros regimes quimioterápicos de mobilização, sendo um, VP-16, 2g/m², um, "DHAP", e dois, "Mini-Ice".

A partir do dia seguinte à administração da quimioterapia de mobilização, injeções diárias de fator de crescimento hemopoiético, G-CSF ou GM-CSF, na dose de 5µg/Kg, foram administradas, exceto para os dois pacientes portadores de LMC, nos quais, o fator de crescimento foi iniciado após oito dias da quimioterapia de mobilização. Vinte e cinco pacientes (61%) receberam G-CSF e 16 (39%), GM-CSF. Os dados detalhados estão no anexo VI.

Tabela 2: Característica dos regimes de mobilização das CPP com quimioterapia e fator de crescimento hemopoiético.

Mobilização	n = 41
Quimioterapia	
Ciclofosfamida 7 g/m ²	24 (58,5%)
Ciclofosfamida 4 g/m ²	13 (31,7%)
"DHAP"	1 (2,4%)
VP-16	1 (2,4%)
"Mini-Ice"	2 (4,9%)
Fator de crescimento hemopoiético	
G-CSF	25 (61%)
GM-CSF	16 (39%)

IV.3. Efeitos colaterais e toxicidade

Todos os pacientes, realmente, receberam o regime de mobilização proposto, com quimioterapia e fator de crescimento hemopoiético. O programa de mobilização foi geralmente bem tolerado, a despeito dos efeitos colaterais esperados dos medicamentos administrados. Vinte e oito pacientes (68,3%) apresentaram complicações durante o período da mobilização, sendo que um paciente (3,6%), apresentou trombose venosa subclávia, provavelmente relacionado ao catéter implantado. Os 27 pacientes restantes (96,4%), apresentaram febre, sendo que, em oito casos (29,6%), foi também relacionado ao catéter. Foi tentado isolar os patógenos para a administração específica da antibioticoterapia. Dez pacientes (24,4%) apresentaram febre de origem indeterminada e nos dezessete restantes (60,7%), fomos capazes de reconhecer o agente infeccioso, sendo seis *Staphylococcus sp*, um associado com *Candida sp*; dois *Streptococcus sp*; dois *Pseudomonas sp*; dois *Acinetobacter sp*; dois *Enterobacter sp* e um para cada dos seguintes microorganismos: *Serratia sp*, *Corynebacterium sp* e *Candida sp*. Não houve nenhum episódio de cistite hemorrágica ou sangramento cutâneo-mucoso. Não ocorreu toxicidade importante durante os procedimentos de leucaférese, mesmo processando grande volume sangüíneo em cada sessão.

IV.4. Procedimentos de leucaféreses

A Tabela 3, resume os dados relativos aos procedimentos de leucaféreses. Foram realizados 115 procedimentos, para os 41 pacientes estudados, sendo onze em equipamento Dideco Vivacell (9,5%), 39 em equipamento Baxter CS 3000 plus (33,9%) e 65 em equipamento Fresenius AS 104 (56,5%). A mediana do volume

sangüíneo processado em cada procedimento foi de 9286 ml (4457 – 13929), e do tempo de procedimento, de 233 minutos (100 – 365). As medianas dos cálculos da eficiência da coleta das células nucleadas totais, das mononucleadas, das granulocíticas e das CD34⁺, foram 14,12% (1,01 – 79,03); 41,61% (2,37 – 94,60); 7,85% (0,71 – 54,57) e 60,10% (2,40 – 326,79), respectivamente. Para efeitos de avaliação da seletividade da coleta, testamos as proporções das células mononucleadas e das CD34⁺ em relação às células nucleadas totais, nas amostras sangüíneas pré-procedimento e nas do produto, obtendo os resultados de 0,22 (0,03 – 0,86) para as células mononucleadas pré-procedimento, e de 0,56 (0,05 – 0,94), para o produto. Para as células CD34⁺, obtivemos a proporção pré-procedimento de $4,72 \times 10^{-4}$ (0,026 – 48,36), e, no produto, de $159,1 \times 10^{-4}$ (1,16 – 1182,6), demonstrando que os procedimentos são altamente seletivos, principalmente em relação às células CD34⁺. Os dados detalhados estão no anexo VII.

Tabela 3: Dados relativos aos procedimentos de leucaféreses (n=115).

	Mediana	Varição
Volume sangüíneo processado menos anticoagulante (ml)	9286	4457 – 13929
Tempo (min)	233	100 – 365
Eficiência das células nucleadas (%)	14,12	1,01 – 79,03
Eficiência das células mononucleadas (%)	41,61	2,37 – 94,60
Eficiência das células granulocíticas (%)	7,85	0,71 – 54,57
Eficiência das células CD34 ⁺ (%)	60,10	2,40 – 326,79
Mononucleares/nucleares pré	0,22	0,03 – 0,86
Mononucleares/nucleares produto	0,56	0,05 – 0,94
CD34 ⁺ /nucleares pré ($\times 10^{-4}$)	4,72	0,026 – 48,36
CD34 ⁺ /nucleares produto ($\times 10^{-4}$)	159,1	1,16 – 1182,6

IV.5. Impacto dos procedimentos de leucaféreses nos parâmetros hematológicos dos pacientes

Os parâmetros hematológicos, pré e pós procedimento são sumarizados na Tabela 4. Quanto ao impacto das leucaféreses nos parâmetros hematológicos dos pacientes, coletados imediatamente antes e quarenta minutos após os procedimentos e comparados através do teste de Mann-Whitney, concluímos que, apesar do grande volume sangüíneo processado, a contagem das diversas células sangüíneas permaneceram estáveis, com exceção da queda significativa dos níveis da hemoglobina e da contagem das células CD34⁺, pós procedimento. Também houve tendência à queda de plaquetas, sem fenômenos hemorrágicos inerentes ao procedimento. Não foi observado qualquer problema clínico relacionado diretamente ao procedimento de leucaférese. Os dados detalhados estão no anexo VIII.

Tabela 4: Parâmetros hematológicos pré e pós cada procedimento de leucaférese.

	Pré procedimento	Pós procedimento	P
Hemoglobina (g/dL)	9,5 (6,7 – 12,4)	8,5 (5,1 – 11,4)	<,0001
Células nucleadas (x 10 ⁹ /L)	4,0 (0,9 – 25,2)	4,4 (0,7 – 24,4)	0,32
Células mononucleadas (x 10 ⁹ /L)	0,8 (0,1 – 7,8)	0,8 (0,2 – 5,7)	0,29
Células granulocíticas (x 10 ⁹ /L)	2,8 (0,3 – 24,5)	3,4 (0,3 – 21,6)	0,21
Células CD34 ⁺ (/μl)	17,1 (0,1 – 328,8)	13,3 (0,3 – 199,5)	0,05
Plaquetas (x 10 ⁹ /L)	47,5 (4,0 – 235,0)	40,0 (5,0 – 259,0)	0,06

*mediana (variação)

IV.6. Características dos produtos obtidos por leucaférese

As características dos produtos obtidos em cada procedimento de leucaférese, estão sumarizadas na Tabela 5. O volume do concentrado de CPP produzido, variou com o equipamento utilizado, com uma mediana de 341 ml (50 – 835). Os níveis da hemoglobina do produto, também variaram, com mediana de 1,6 g/dL (0,2 – 10,6). A mediana da quantidade de células nucleadas, no produto, foi de $1,0 \times 10^8/\text{Kg}$ de peso do paciente (0,18 – 6,42), a de células mononucleadas, $0,53 \times 10^8/\text{Kg}$ e a de células granulocíticas, $0,4 \times 10^8/\text{Kg}$ (0,03 – 2,89). Foi possível obter, em cada procedimento, a quantidade mediana de 1,6 células $\text{CD34}^+/\text{Kg}$ de peso do paciente (0,03 – 25,66). A quantidade de plaquetas presente no concentrado de CPP, de cada procedimento, foi de $0,70 \times 10^{11}$ (0,08 – 14,25). Os dados detalhados estão no anexo IX.

Tabela 5: Características dos produtos obtidos em cada procedimento de leucaférese.

	Mediana	Varição
Volume produto (ml)	341	50 – 835
Hb (g/dL)	1,6	0,2 – 10,6
Células Nucleadas ($\times 10^8/\text{Kg}$)	1,0	0,18 – 6,42
Células Mononucleadas ($\times 10^8/\text{Kg}$)	0,53	0,05 – 5,41
Células Granulocíticas ($\times 10^8/\text{Kg}$)	0,4	0,03 – 2,89
Células CD34^+ ($\times 10^6/\text{Kg}$)	1,6	0,03 – 25,66
Quantidade de Plaquetas ($\times 10^{11}$)	0,70	0,08 – 14,25

IV.7. Características clínicas e biológicas da mobilização

Os dados relativos às características clínicas e biológicas da mobilização, estão na Tabela 6. Seguindo a administração da quimioterapia de mobilização, a mediana

para os leucócitos atingirem $1,0 \times 10^9/L$, após o “nadir”, foi de 12 dias (7 – 19), como ilustrado no histograma da Figura 1. A contagem plaquetária recuperou para níveis de 20,0 e $50,0 \times 10^9/L$ em 10 dias (0 – 30) e 13 dias (0 – 30), respectivamente. Durante todo o período da mobilização, compreendido desde o dia da quimioterapia, até o último procedimento de leucaférese, a mediana do número de concentrado de hemácias lavadas e irradiadas transfundidos, foi de duas unidades (0 – 15). O número de episódios transfusionais de plaquetas, variou de 0 a 17 (mediana: 0,5). A mediana do número de dias de internação foi de 17 (0 – 35) e, da somatória das células $CD34^+$ coletadas, por paciente, foi $6,19 \times 10^6/Kg$ (0,22 – 33,78), como demonstrado no histograma da Figura 2. Nós coletamos quantidade suficiente de CPP, realizando pequeno número de procedimentos, com uma mediana de três procedimentos por paciente (0 – 6). A mediana da somatória das células nucleadas coletadas, ao longo de todos os procedimentos, foi de $3,19 \times 10^6/Kg$ (0,33 – 9,84) e das mononucleadas, de $1,39 \times 10^6/Kg$ (0,16 – 7,5). Estes dados detalhados, estão no anexo X.

Tabela 6: Características clínicas e biológicas da mobilização.

	Mediana	Variação
Leucócitos $> 1,0 \times 10^9/L$ (dias)*	12	7 – 19
Plaquetas $> 20,0 \times 10^9/L$ (dias)*	10	0 – 30
Plaquetas $> 50,0 \times 10^9/L$ (dias)*	13	0 – 30
Concentrado de hemácias transfundidos**	2	0 – 15
Transfusão de plaquetas (episódios)**	0,5	0 – 17
Dias de hospitalização**	17	0 – 35
Procedimentos de leucaféreses	3	1 – 6
Células $CD34^+$ ($\times 10^6/Kg$) (total)	6,19	0,22 – 33,78
Células nucleadas ($\times 10^6/Kg$)	3,19	0,33 – 9,84
Células mononucleadas ($\times 10^6/Kg$)	1,39	0,16 – 7,5

*dias após quimioterapia de mobilização; **período entre a quimioterapia de mobilização e o último procedimento de leucaférese.

Figura 1: Histograma dos dias de recuperação leucocitária após a quimioterapia, para os leucócitos chegarem a $1,0 \times 10^9/L$, em função da porcentagem dos pacientes.

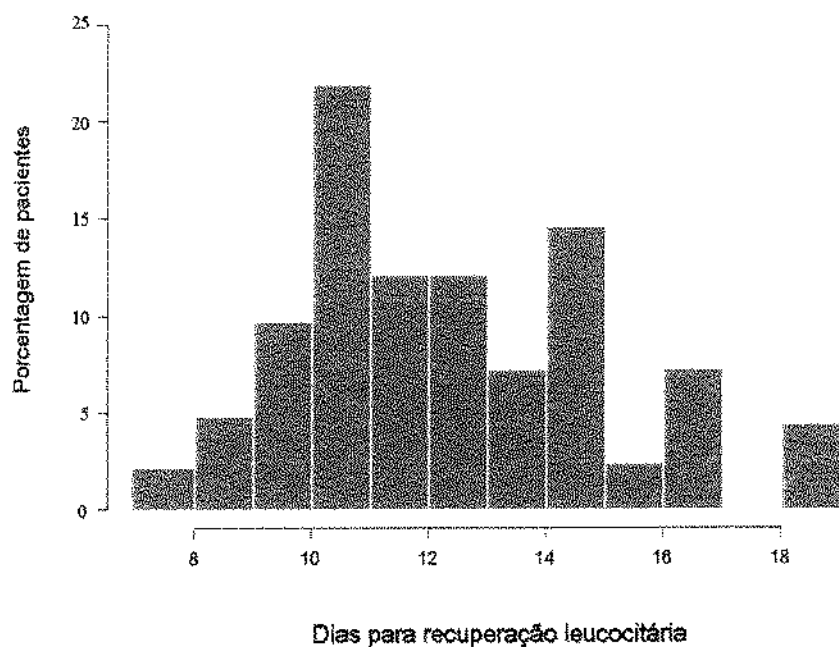
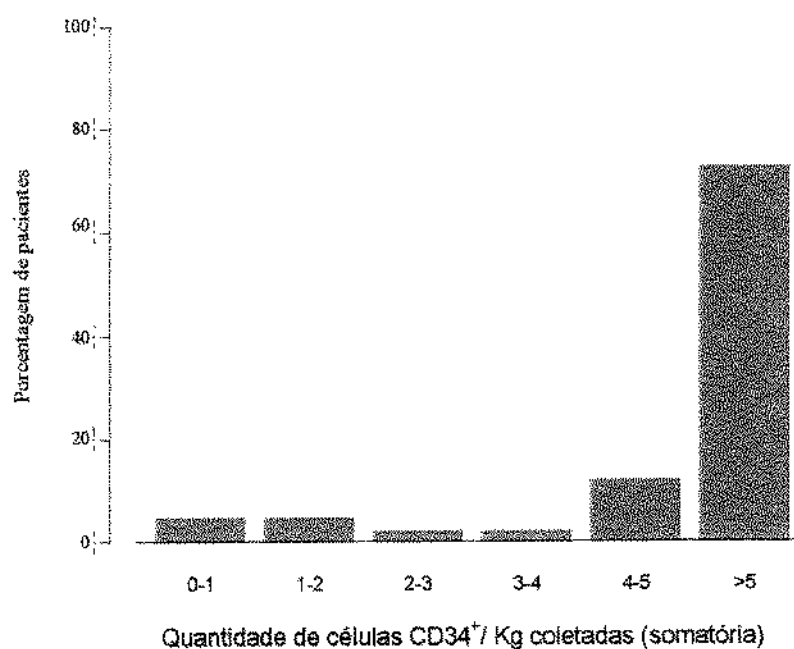


Figura 2: Histograma da obtenção das células CD34⁺ (somatória de todos os procedimentos).



IV.8. Comparação entre os pacientes quanto à coleta do número alvo de CPP

Nós analisamos dois grupos, de acordo com a obtenção das células CD34⁺, considerando as características dos pacientes que coletaram acima ou abaixo do alvo desejado, isto é, $5,0 \times 10^6/\text{Kg}$. Estas características, são mostradas na Tabela 7. Em onze dos 41 pacientes (26,8%), não foi possível coletar este alvo, sendo que, destes, seis (54,6%), eram portadores de LNH e cinco (45,4%), de DH. Cinco foram mobilizados com CY, 4 g/m^2 , cinco com CY, 7 g/m^2 e um paciente, foi mobilizado com VP-16, 2 g/m^2 . Cinco pacientes foram mobilizados com quimioterapia e G-CSF e seis, com quimioterapia e GM-CSF. Dois apresentavam envolvimento medular na época da mobilização e quatro, já tinham recebido radioterapia anterior. Quatro pacientes receberam uma linha quimioterápica prévia; cinco, duas linhas e dois, quatro linhas. Do total dos 41 pacientes estudados, quatro (9,8%), não atingiram a quantidade de $2,0 \times 10^6$ células CD34⁺/Kg, com a somatória do coletado em todos os procedimentos de leucaféreses. Dois pacientes eram portadores de LNH e dois, de DH. Três pacientes foram mobilizados com CY 4 g/m^2 e um, com VP-16, 2 g/m^2 . Somente um paciente apresentava envolvimento medular pela doença de base na época da mobilização. Dois pacientes foram mobilizados com quimioterapia e G-CSF e dois, com quimioterapia e GM-CSF. Três já tinham recebido radioterapia anterior. Dois deles já haviam recebido quatro linhas quimioterápicas prévias e dois, duas linhas. Nenhum dos pacientes com MM ou LMC, coletou menos que o nível proposto de células progenitoras.

Note-se que houve, significativamente, menos células mononucleadas nos produtos das aféreses entre os pacientes que apresentaram bom rendimento, quando

comparado ao grupo contendo os pacientes considerados maus e médios mobilizadores ($P = 0,05$).

Para o grupo dos bons mobilizadores ($n = 30$), fazendo-se a análise univariada, observamos que a única variável preditora para os “dias de recuperação leucocitária”, foi o “número de procedimentos de aféreses” ($P = 0,047$). Para o grupo que não mobilizou adequadamente ($n = 11$), a variável preditora foi a “quimioterapia de mobilização” ($P = 0,03$).

Tabela 7: Características da mobilização e coleta de acordo com a obtenção das células CD34⁺

	CD34 ⁺ $\geq 5 \times 10^6$ /Kg (n=30)	CD34 ⁺ $< 5 \times 10^6$ /Kg (n=11)
Idade (anos)	32 (12-59)	35 (18-57)
Diagnóstico (DH/LNH/outros)	10 / 15 / 5	5 / 6 / 0
Ciclos de quimioterapia prévia	2 (1-4)	2 (1-4)
Radioterapia prévia (N/S)	20 / 10	7 / 4
Quimioterapia de mobilização (CY4/CY7/Outros)	8 / 19 / 3	5 / 5 / 1
G/GM-CSF	20 / 10	5 / 6
Número de procedimentos de aféreses	2 (1-5)	3 (1-6)
Recuperação leucocitária $> 1.0 \times 10^9$ (dias)	12,5 (7-19)	12 (10-19)
Células mononucleadas ($\times 10^8$ /Kg)	1,25 (0,34-7,50)	2,13 (0,16-4,23)
Células nucleadas ($\times 10^8$ /Kg)	2,93 (0,91-9,84)	3,36 (0,33-9,35)
Células CD34 ⁺ obtidas ($\times 10^6$ /Kg)	6,74 (5,11-33,78)	3,12 (0,22-4,93)

DH: Doença de Hodgkin; LNH: Linfoma não-Hodgkin; CY4: Ciclofosfamida 4 g/m²; CY7: Ciclofosfamida 7 g/m²; N: não; S: sim. Mediana (variação).

IV.9. Variáveis que influenciaram a obtenção das células CD34⁺ - Fatores preditivos

Considerando-se o grupo total, não houve contribuição das variáveis idade, diagnóstico, radioterapia prévia e tipo de fator de crescimento utilizado, para a

correlação entre a variável “dias para a recuperação leucocitária” após o “nadir”, e as variáveis “número de aféreses” necessárias para se coletar a quantidade alvo de CPP, e “tipo de quimioterapia de mobilização”.

Na análise multivariada (ANOVA), quando testamos a variável “dias para recuperação leucocitária”, obtivemos uma correlação linear dos preditores “número de procedimentos de aféreses” e “tipo de quimioterapia de mobilização” (coeficientes de 0,86 e 0,95, respectivamente). Quando analisamos os dados conjuntamente, somente a variável “número de procedimentos de aféreses”, mostrou significância ($P = 0,01$). A “quimioterapia de mobilização”, não mostrou significância. Entretanto, quando fizemos o mesmo tipo de análise, separando os tipos de quimioterapia de mobilização, manteve-se a significância envolvendo a variável “número de procedimentos de aféreses”. Quanto ao “tipo de quimioterapia de mobilização”, somente se manteve a significância para o grupo de pacientes que receberam CY 4 g/m² ($P = 0,04$), e não, para os que receberam CY 7g/m² ou outros tipos de quimioterapia de mobilização ($P = 0,27$ e 0,33, respectivamente).

Assim, para os pacientes que apresentaram recuperação leucocitária mais rápida, houve necessidade de menor número de procedimentos de aféreses, para se atingir o alvo de CPP, como é mostrado na Figura 3. Da mesma forma, os pacientes mobilizados com 4 g/m² de CY, necessitaram de menos dias para a recuperação leucocitária atingir $1,0 \times 10^9/L$ após o “nadir”, como mostrado na Figura 4.

Centrando-se agora a análise sobre as variáveis “dias para a recuperação leucocitária (tempo de espera)” e “número de procedimentos de aféreses”, vemos que podemos utilizar conhecimentos estatísticos, para justificar distribuições de probabilidades, para estas duas variáveis. Elas tiveram uma distribuição de Poisson, e

porisso, foram ajustadas para a distribuição Gaussiana, para realizar as análises seguintes. As Figuras 5 e 6, mostram a função de distribuição cumulativa ajustada das variáveis “número de aféreses” e “dias para a recuperação leucocitária”, respectivamente, comparadas às curvas Gaussianas hipotéticas. Ambas as curvas, são muito similares às funções de distribuição cumulativa normal hipotetizadas. Temos, portanto, evidenciada, a distribuição conjunta das variáveis transformadas “dias para recuperação leucocitária” e “número de procedimentos de aféreses”, como uma Gaussiana bivariada, com vetor de média $(0 - 0)$, vetor de variância $(1 - 1)$ e coeficiente de correlação de 0,36 ($P = 0,02$). Justificando o ajuste da distribuição bivariada Gaussiana, aos pares transformados para as duas variáveis em questão, ao plotarmos estes pares, vamos juntar a eles as curvas-contornos da distribuição bivariada para algumas probabilidades de escolha. Com tais curvas, assim chamadas curvas de nível (contour), podemos definir regiões, cujas probabilidades, justificam o ajuste da distribuição teórica aos dados experimentais (Figura 7). Para melhor ilustrar a afirmação anterior, simulamos, na curva Gaussiana bivariada, com os parâmetros acima descritos, uma amostra de 1000 casos teóricos, e mostramos o resultado obtido, na Figura 8.

Na nossa casuística, não houve influência da idade, do número de ciclos quimioterápicos anteriores, do tratamento radioterápico anterior, ou do tipo de fator de crescimento utilizado, para a obtenção das células CD34⁺.

Figura 3: “Boxplot” mostrando os valores descritos do número de procedimentos de aféreses e dias até a recuperação leucocitária, após a quimioterapia de mobilização. As áreas achuriadas estão relacionadas ao intervalo de confiança de 95% da mediana.

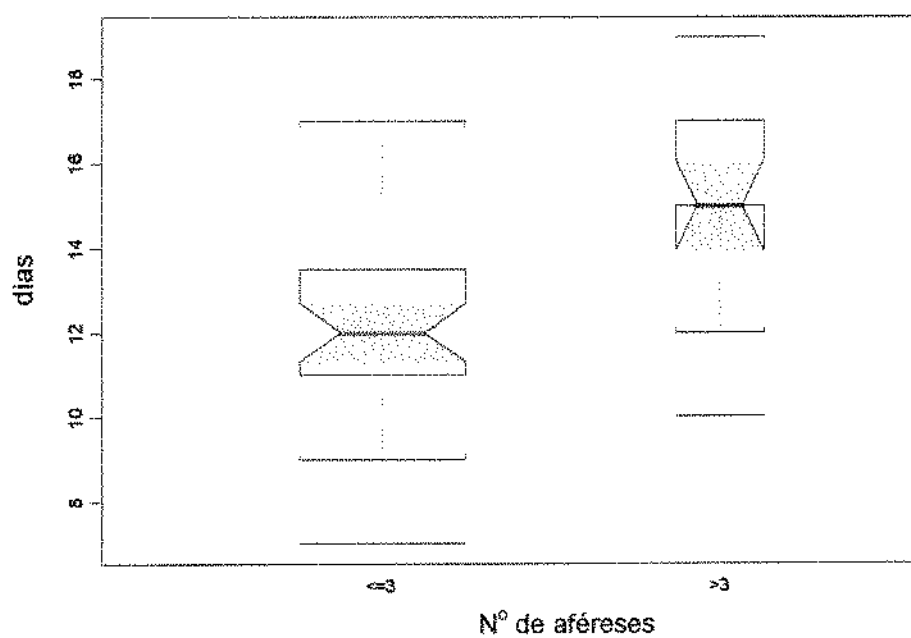


Figura 4: "Boxplot" mostrando os valores descritos do tipo de quimioterapia de mobilização e recuperação leucocitária após a quimioterapia mobilizante. As áreas achuriadas estão relacionadas ao intervalo de confiança de 95% da mediana.

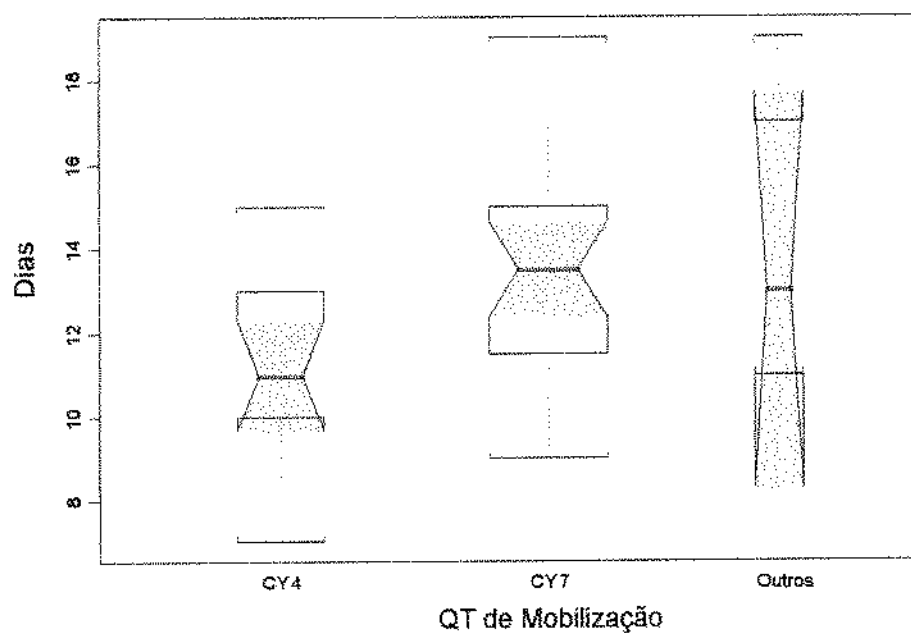


Figura 5: Curva de probabilidade acumulada hipotética e empírica para a variável “número de procedimentos de aféreses”, em modelo Gaussiano. A linha sólida representa a função de distribuição empírica, e a pontilhada, a hipotética.

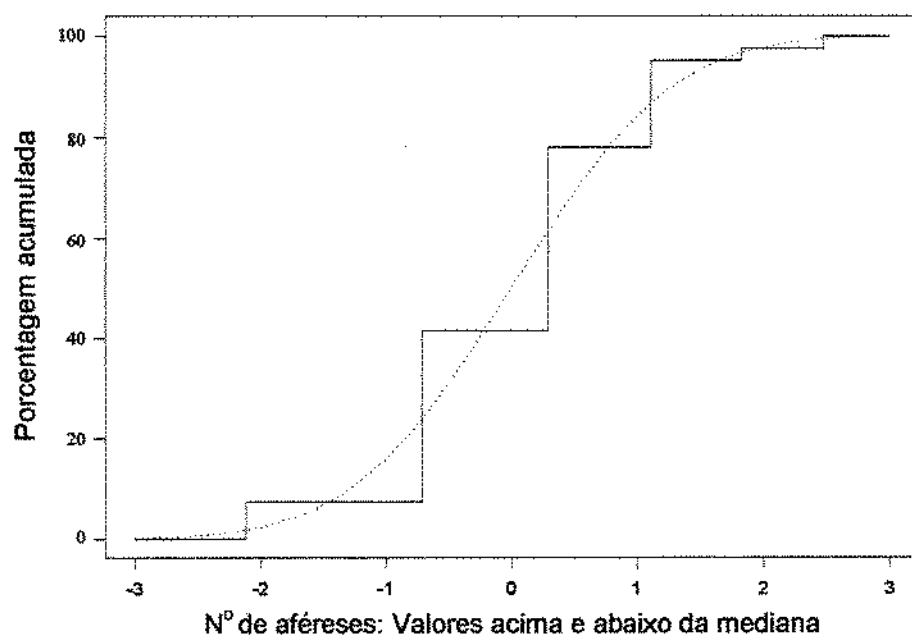


Figura 6: Curva de probabilidade acumulada hipotética e empírica para a variável “dias para recuperação leucocitária”, em modelo Gaussiano. A linha sólida representa a função de distribuição empírica, e a pontilhada, a hipotética.

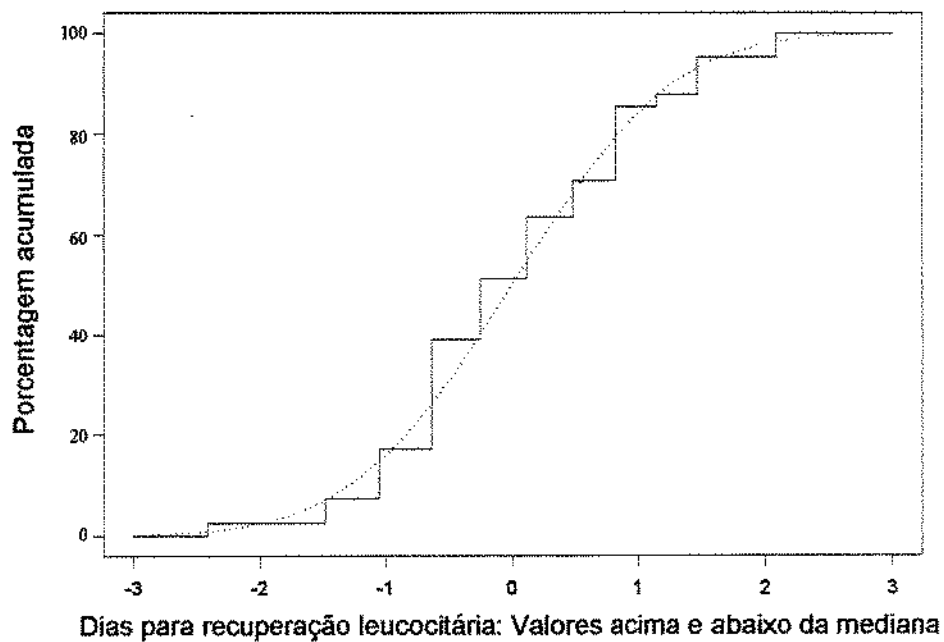


Figura 7: Distribuição Gaussiana Bivariada , com dados ajustados e teóricos. A linha inclinada mostra a regressão linear entre as variáveis “número de procedimentos de aféreses” e “dias para recuperação leucocitária” ($r=0,36$).

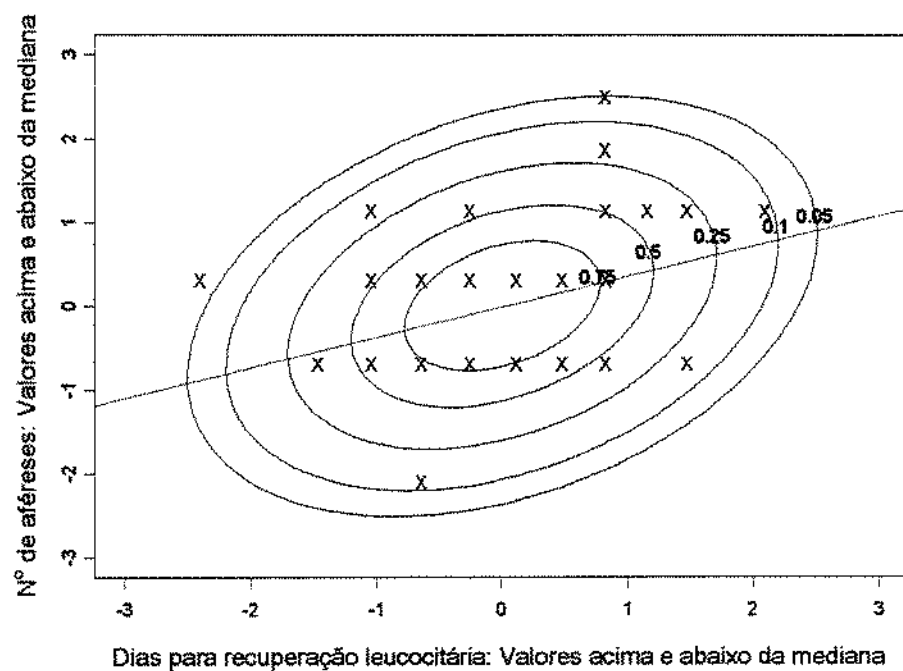
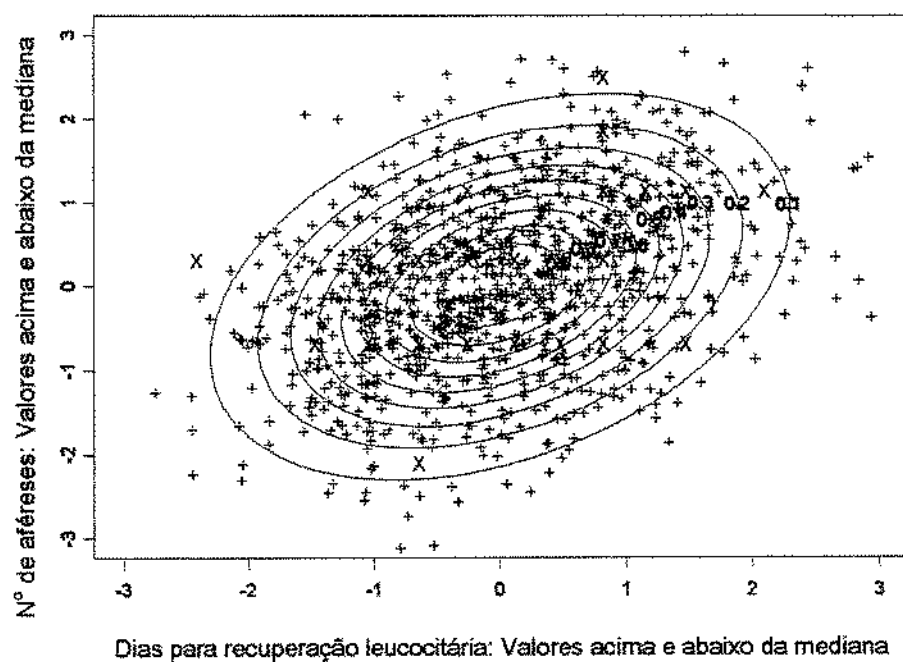


Figura 8: Distribuição Gaussiana Bivariada, simulada com 1000 amostras (azuis) e dados ajustados (vermelhos).



V. Discussão

Este é um estudo prospectivo, controlado, de fase II, que nasceu a partir da protocolização da abordagem terapêutica dos pacientes portadores de doenças onco-hematológicas, com indicação para transplante autólogo de células progenitoras hemopoiéticas, em nossa Instituição.

Nossa casuística reuniu pacientes com doenças malignas avançadas, a maioria com estadios clínico III e IV e, em mais da metade, o tratamento foi de salvamento.

A lógica do procedimento de mobilização com quimioterapia de alta dose é, não somente a de promover coleta de quantidade suficiente de células progenitoras hemopoiéticas periféricas para posterior infusão pós quimioterapia mieloablativa, mas também de testar a quimiossensibilidade do tumor à quimioterapia e, logicamente, diminuir a massa tumoral.

O presente estudo, demonstra a viabilidade para mobilizar e coletar células progenitoras, a partir do sangue periférico, em pacientes previamente tratados para neoplasias hematológicas. Os efeitos colaterais e a toxicidade, usando alta dose de ciclofosfamida, na maioria dos pacientes, foram aceitáveis.

A ciclofosfamida, tem mostrado aumentar linearmente a contagem periférica das células progenitoras com o incremento da dose (ROWLINGS et al, 1992), porém, o regime mais efetivo e a adequada intensidade da quimioterapia de mobilização, estão ainda para ser definidos (KETTERER et al, 1998).

Nós demonstramos a grande capacidade da alta dose de ciclofosfamida, seguida por fator de crescimento hemopoiético, de mobilizar as células progenitoras para o sangue periférico, incluindo pacientes pesadamente tratados com quimioterapia, associada ou não a radioterapia anterior. Nós não fomos capazes de demonstrar a influência do número de linhas quimioterápicas prévias e da radioterapia

prévia na quantidade obtida de células CD34⁺, apesar destes fatores terem sido considerados importantes, em trabalhos publicados (BENSINGER et al, 1995; HAAS et al, 1994; GOLDSCHMIDT et al, 1997). Estas observações, provavelmente, estão relacionadas ao pequeno número de pacientes estudados no presente trabalho. O tipo de fator de crescimento utilizado, o diagnóstico e a idade dos pacientes, não apresentaram correlação com os dias necessários para a recuperação leucocitária após quimioterapia de mobilização, e com o número de procedimentos de aféreses necessários para se obter boa coleta de células CD34⁺.

Ambos os fatores de crescimento hemopoiético utilizados no nosso estudo - rh-G-CSF ou rh-GM-CSF - parecem ser igualmente efetivos como agentes mobilizantes, porém, atentamos ao fato de termos analisado pequeno número de casos, e de não se tratar de estudo randomizado desenhado para responder tal questão. Trabalhos da literatura sugerem que o rh-G-CSF possa ser superior para a mobilização das células progenitoras para o sangue periférico (PETERS et al, 1993; BOLWELL et al, 1994). Nenhum grande estudo prospectivo, randomizado e controlado, comparando as células progenitoras mobilizadas com estes dois fatores de crescimento hemopoiético, foi até então realizado.

Até muito recentemente, no início dos anos 90, algumas questões básicas relacionadas ao transplante de células progenitoras hemopoiéticas periféricas ainda estavam abertas e necessitavam ser respondidas, como, por exemplo, o número exato de células mononucleadas requeridas para assegurar enxertamento seguro e eficaz, além da exata natureza das células progenitoras hemopoiéticas periféricas (WILLIAMS et al, 1990). Mais tarde, com o desenvolvimento da identificação e da

quantificação das células CD 34⁺, tornou-se possível estimar a quantidade de células progenitoras entre as células mononucleadas coletadas (KORBLING et al, 1995).

Diversos trabalhos publicados, sugerem que o pico das células progenitoras hemopoiéticas periféricas ocorre principalmente do segundo ao quinto dia de administração de fatores de crescimento hemopoiético, quando administrados em indivíduos sadios, submetidos a coletas destinadas a transplante alogênico (De ARRIBA et al, 1995; RUSSEL et al, 1995; AZEVEDO et al, 1995). Nas coletas destinadas a transplante autólogo, já é estabelecido que este pico ocorre durante a ascensão dos leucócitos na recuperação medular pós quimioterapia de mobilização (HAAS et al, 1994), porém, a época ideal para se iniciar os procedimentos de aféreses ainda está indefinido. Diversos parâmetros são encontrados na literatura, que incluem principalmente a cinética da recuperação leucocitária, a contagem plaquetária, e a contagem pré-procedimento das células CD34⁺ que, mais recentemente, parece ser a mais efetiva.

A morbidade e a mortalidade dos pacientes, tanto na época da mobilização, quanto na época da infusão das CPP, após quimioterapia mieloablativa, estão estreitamente relacionadas aos dias de aplasia, pelas conseqüentes complicações infecciosas e hemorrágicas, além da dependência transfusional. Assim, é importante abreviarmos este período, oferecendo reinfusão de quantidade suficiente de CPP, para assegurar mais rápida recuperação hemopoiética. A quantidade das CPP para se garantir a completa e sustentada hemopoiese quando da reinfusão após quimioterapia mieloablativa, vem sendo constantemente modificado pela literatura. O valor de $5,0 \times 10^6/\text{Kg}$, definido por TRICOT et al (1995), foi a referência para o nosso trabalho.

No presente estudo, conseguimos coletar acima da quantidade alvo de células CD34⁺, na maioria dos pacientes (73,2%), tendo como mediana, $6,19 \times 10^6/\text{Kg}$, em uma mediana de três procedimentos de leucaférese por paciente. Isto nos demonstrou que o nosso protocolo de coleta realmente é efetivo e cômodo, e que os nossos equipamentos são adequados para a quantidade proposta de células CD34⁺ que desejamos coletar. Mesmo para o grupo de pacientes em que não conseguimos coletar a quantidade alvo de células CD34⁺ (26,8%), o transplante foi realizado e, em apenas dois pacientes, procedemos a coleta de medula óssea adicional, no sentido de elevar o número de células progenitoras.

No geral, os procedimentos foram bem tolerados pelos pacientes, tanto no aspecto da mobilização, através de quimioterapia e fator de crescimento hemopoiético, como pelos procedimentos de leucaféreses. Porém, as complicações relacionadas ao catéter de longa permanência, foram relativamente freqüentes, ocorrendo em 22% do total de pacientes estudados.

As infecções são as principais causas de complicações em catéteres de longa permanência (PRESS et al, 1984; GUENIER, FERREIRA & PECTOR, 1989) e estudos têm atribuído à manutenção sub-ótima do catéter, a causa das altas taxas de infecção (WAGMAN & NEIFELD, 1986; WEIGHTMAN, 1988). O patógeno isolado mais comum é o *Staphilococcus sp* (LANDAY Z, et al, 1984), e a razão para esta predominância inclui sua prevalência na pele (ROTSTEIN et al, 1988) e sua habilidade para aderir aos materiais de degradação no catéter (PRESS et al, 1984). Nossos dados também mostraram conformidade com o observado na literatura, quanto à predominância do *Staphilococcus sp*. No nosso estudo, as freqüentes complicações infecciosas foram controladas com antibioticoterapia, em todos os pacientes. Porém, o grande número

de complicações infecciosas, deve nos levar a melhorar os cuidados de manutenção do catéter quanto a heparinização, a lavagem e a desinfecção, por pessoal qualificado de enfermagem, adotando protocolos mais rigorosos e realizando controles periódicos.

Recentes estudos indicam que as obstruções que ocorrem no catéter são muito freqüentes, provavelmente devido a depósitos de fibrina nos poros da superfície interna (CRAIN et al, 1996), promovendo o mecanismo de "válvula". Esta obstrução parcial prejudica os procedimentos onde são realizadas pressões negativas, como aspirar o sangue do paciente, tanto para a coleta de amostras para exames ou culturas, e para os procedimentos de aféreses. Na nossa experiência, também pudemos observar a grande ocorrência de obstruções na época das aféreses, provavelmente, devido à ampla manipulação do catéter para a administração de quimioterapia, de antibióticos e de outros medicamentos e de transfusões. As desobstruções foram, habitualmente, difíceis, necessitando de nova heparinização, realocação do catéter ou até mesmo, nova implantação.

Quanto à necessidade transfusional durante o período de mobilização e coleta de CPP, notamos que 12 (29,3%) e 20 (48,8%) dos 41 pacientes estudados, não tiveram necessidade de administração de concentrado de hemácias ou de plaquetas, respectivamente, o que demonstra a baixa morbidade do procedimento.

Os procedimentos de aféreses foram bem tolerados, a despeito da grande quantidade de volume sangüíneo processado. A duração das aféreses não foi tão longa a ponto de causar desconforto aos pacientes e os efeitos colaterais do anticoagulante foram leves. Os produtos coletados mostraram "boa qualidade", definida através da alta quantidade de células CD34⁺, e baixos níveis de hemoglobina. As alterações nos valores hematológicos determinados imediatamente antes, e

quarenta minutos após os procedimentos, foram mínimos. Somente o nível da hemoglobina foi significativo, porém, não limitou os procedimentos consecutivos, nem causou a interrupção do próprio procedimento.

Os procedimentos de leucaféreses transcorreram em ambiente agradável; Os pacientes puderam conversar, assistir a programas de televisão e se alimentar, com a presença de um familiar, quando desejasse. Estas atividades, contribuíram para tranquilidade dos pacientes, no sentido de suportar o tempo, relativamente longo (mediana de 4 horas), dos procedimentos.

As leucaféreses foram extremamente seguras quanto ao impacto para os parâmetros hematológicos dos pacientes, não havendo depleção significativa de células. Não obtivemos significância quando comparamos a contagem plaquetária pré e pós-procedimento ($P = 0,06$), o que não é observado quando se trata de doadores alogênicos (AZEVEDO et al, 1995; VIGORITO et al, 1997). Provavelmente esta observação seja devida à plaquetopenia dos nossos doentes no pré-procedimento imediato, o que leva a uma menor amplitude de variação, possivelmente interferindo nos cálculos estatísticos.

São encontrados na literatura, protocolos que preconizam o processamento de grande quantidade de volume sangüíneo em cada sessão, podendo-se chegar até 40 litros (COMENZO et al, 1995). HILLYER et al (1993), demonstraram que há um aumento do rendimento da coleta de CFU-GM quando se processa mais de três volêmias. O aumento de 56% do volume processado, levaria ainda, a um aumento de 142% na quantidade de CFU-GM coletada, sugerindo que possa haver uma mobilização durante e associado ao procedimento de leucaférese.

Neste estudo, o processamento de quantidade moderadamente grande de volume sangüíneo, em cada sessão de leucaférese, nos permitiu, além de reduzir custos com "kits", solutos e tempo despendido pelos funcionários, concentrar os procedimentos nos dias onde haveria maior quantidade de células progenitoras circulantes. Nós acreditamos que o processamento de maior quantidade de volume sangüíneo, em cada sessão, aumentaria os efeitos colaterais, o cansaço dos pacientes e dos funcionários, diretamente relacionados ao aspecto operacional dos procedimentos.

Há diversos equipamentos de aféreses disponíveis para a realização de procedimentos de coleta das células progenitoras hemopoiéticas periféricas, e a literatura mostra diversos estudos caracterizando a eficácia e a segurança, inclusive comparando diversos equipamentos.

DEL MONTE et al (1990), em um dos primeiros estudos do gênero, submeteu nove pacientes a 50 procedimentos de coleta de CPP em equipamento Dideco Vivacell, análogo a um dos utilizados por nós, neste estudo. Iniciou as aféreses, quando as contagens leucocitária, monocitária e plaquetária atingiram $1,5$ a $2,0 \times 10^9/L$, 8 a 10% e $50,0$ a $100,0 \times 10^9/L$ no sangue periférico, respectivamente, com intervalo entre os procedimentos de 24 a 48 horas. A média dos valores totais de leucócitos e células mononucleadas coletadas foram $6,5$ e $5,5 \times 10^9$, respectivamente, demonstrando a efetividade do método em oito pacientes, através dos valores da reconstituição hemopoiética.

WILLIAMS et al (1990), relatou a coleta das CPP, em outro equipamento utilizado por nós - Baxter CS 3000, em 18 pacientes, submetidos à alta dose de quimioterapia, sendo coletada a média de $31,9 \times 10^9$ células mononucleadas, o que

correspondeu a $4,85 \times 10^8$ células mononucleadas/Kg. Em quinze pacientes, realizou ensaio "*in vitro*" para CFU-GM, obtendo a média de $2,7 \times 10^4$ CFU-GM/Kg. Quando da reinfusão das células, as recuperações granulocitária, para $0,5 \times 10^9$ /Litro e plaquetária, para $50,0 \times 10^9$ /Litro ocorreram, em média, após 15 e 43 dias, respectivamente, sendo que, quatro pacientes apresentaram plaquetopenia prolongada após a infusão. Concluiu que, a coleta e infusão das células hemopoiéticas periféricas, são procedimentos seguros e efetivos para a reconstituição hemopoiética, após alta dose de quimioterapia, para a maioria dos pacientes, evidenciando que, devido à reconstituição hemopoiética incompleta observada em alguns pacientes, estes procedimentos requeriam novas investigações.

PIERELLI et al (1993), relataram 29 pacientes submetidos a 110 procedimentos de coleta de CPP em equipamento Fresenius AS 104. Quarenta e sete procedimentos foram realizados após mobilização somente com quimioterapia, enquanto que, 63 procedimentos, em pacientes após mobilização com quimioterapia mais fator de crescimento hemopoiético. Nos pacientes submetidos a mobilização com quimioterapia e fator de crescimento, a obtenção das células foi significativamente maior. A eficiência de coleta das células mononucleadas e dos progenitores hemopoiéticos, foi comparável ou superior aos reportados por BENDER (1992), que utilizou equipamento Baxter CS3000.

Neste estudo, o uso dos equipamentos foram aleatórios, conforme disponibilidade da Instituição, agendamento dos doadores de plaquetas, realização de procedimentos terapêuticos e da ocorrência de dois ou mais procedimentos de coleta de CPP no mesmo dia. Porém, nós propusemos, e conseguimos, utilizar o mesmo equipamento para o mesmo paciente, isto é, quando começamos as coletas de CPP

em um determinado equipamento, este era mantido até se completar o número de procedimentos necessários.

O equipamento Dideco Vivacell, foi o único que necessitou controle manual constante do operador durante todo o período da realização dos procedimentos. Este fato exigiu um trabalho mais laborioso por parte do biólogo e do médico operador. Apesar deste fato não ser limitante, é necessário que estes procedimentos sejam realizados por técnicos bem treinados, havendo possibilidade de resultados diferentes, conforme o operador. Nos outros dois equipamentos, todos os controles relacionados à coleta são automatizados e previamente programados no equipamento, sendo que nestes casos, a interferência do operador é quase inexistente.

O concentrado de células progenitoras periféricas ideal, seria aquele que possuísse grande quantidade das células “desejáveis” e pouca quantidade das “não desejáveis”. As primeiras consistem nas células CD34⁺, e as segundas, principalmente nos glóbulos vermelhos, granulócitos e plaquetas, que podem interferir negativamente durante a criopreservação. Os nossos produtos de concentrado de CPP podem ser considerados de “boa qualidade”, quanto ao aspecto da quantidade de células desejadas e não desejadas.

Para se chegar mais próximo a este concentrado de CPP ideal, podemos proceder à realização de cálculos, para otimizar a coleta. O cálculo da eficiência de coleta é preconizado para se avaliar o quanto de uma determinada célula, que passou através do equipamento, foi possivelmente retida, eliminando-se a interferência da quantidade absoluta destas células. Nós procedemos os cálculos da eficiência para os diversos tipos celulares, para estabelecer a especificidade do procedimento. Não nos interessa, por exemplo, proceder o congelamento das células granulocíticas em

grande quantidade. O que desejamos observar foi coletar, eficientemente, mais células progenitoras hemopoiéticas. Estas células têm morfologia semelhante ao linfócito. Os valores acima de 100%, observados neste trabalho, quando se determinou a eficiência das células CD34⁺, significa que, em virtude do relativo grande volume sangüíneo processado, houve recirculação destas células, que puderam ser coletadas em posterior passagem pelo equipamento.

O cálculo da seletividade é extremamente útil para se determinar a “qualidade” intrínseca dos procedimentos de aféreses, relacionados aos operadores, aos programas, e ao próprio equipamento. Nós procedemos à realização destes cálculos no sentido de observarmos a inversão da concentração de uma determinada célula do sangue periférico para o produto. Neste estudo ficou nítida esta inversão, principalmente quanto às células CD34⁺, que partiu de 4.72×10^{-4} no sangue circulante pré-procedimento para 159.1×10^{-4} no produto aferético, demonstrando a seletividade dos procedimentos quanto à coleta das células CD34⁺.

As características relatadas por FORD et al (1998), referindo-se às situações em que maior leucocitose, maior hematócrito e/ou maior concentração sérica de albumina, no período pré-procedimento, levariam a uma menor eficiência de coleta das células CD34⁺, podem explicar, de fato, nossa alta eficiência, com mediana de 60,1%, devido à anemia e leucopenia dos nossos pacientes.

Nós também observamos que, pacientes que coletaram um bom número de células progenitoras a partir do sangue periférico, mostraram, para o mesmo número de leucócitos sangüíneos periféricos, menor quantidade de células mononucleadas que aqueles que não coletaram bem. Nos pacientes bons mobilizadores, o aumento da quantidade de leucócitos totais foi acompanhado pelo aumento das células

polimorfonucleadas. Por outro lado, nos pacientes que mobilizaram mal, o aumento dos leucócitos foi devido, principalmente, ao aumento das células mononucleadas. Portanto, no presente estudo, o número de células mononucleadas não pôde ser considerado um bom parâmetro para monitorar a qualidade da obtenção das células CD34⁺.

VALBONESI (1993), reportou que o número de procedimentos de aféreses necessários para a coleta de quantidade suficiente de células progenitoras, a partir do sangue periférico, durante a rápida recuperação hemopoiética que se segue à quimioterapia citotóxica de mobilização, depende do tipo de doença, do tipo de quimioterapia, das condições clínicas dos pacientes, das contagens pré-procedimentos, da concomitante administração de fator de crescimento hemopoiético, da época ótima da realização dos procedimentos de aféreses, do acesso vascular, dos equipamentos de aféreses e do tipo de técnica utilizada. O autor concluiu que o performance e a qualidade do produto pode ser totalmente diferente, dependendo não só do equipamento, mas também das condições clínicas dos pacientes.

Baseado neste princípio de procurar definir fatores preditivos para a mobilização e a coleta das células progenitoras periféricas, para transplante autólogo em pacientes com doenças malignas hematológicas, vários estudos começaram a surgir recentemente na literatura (HAAS et al, 1994; BENSINGER et al, 1995; GOLDSCHMIDT et al, 1997; WATTS et al, 1997; KETTERER et al, 1998; FORD et al, 1998; D'ARENA et al, 1998; GANDHI et al, 1999).

Um resultado interessante obtido no presente estudo, foi a correlação linear entre os dias necessários para a recuperação leucocitária após a quimioterapia de mobilização e o número de procedimentos de aféreses necessários para a coleta de

quantidade suficiente de células CD34⁺. No nosso estudo, a recuperação leucocitária precoce foi um fator preditivo para poucos procedimentos de aféreses necessários para se atingir a quantidade desejada de células CD34⁺ no produto das aféreses. Nos pacientes que necessitaram mais dias para a recuperação leucocitária, o número esperado de procedimentos de aféreses foi maior, e a eficácia da coleta, menor. Além do mais, os pacientes, quando mobilizados com 4 g/m² de CY, mostraram maior efetividade para a mobilização, do que quando mobilizados com 7 g/m², no sentido de coletar células CD34⁺, além de apresentarem recuperação leucocitária mais precoce. Estas características estão, provavelmente, relacionadas, entre outros fatores, à menor lesão medular induzida pela dose menor de CY.

VI. Conclusões

O presente estudo, nos permitiu formular as seguintes conclusões:

- Houve correlação linear entre o número de procedimentos de leucaféreses necessários para se coletar a quantidade desejada de células CD34⁺ e a velocidade de recuperação leucocitária após a quimioterapia de mobilização;
- A recuperação leucocitária precoce após a quimioterapia de mobilização, levou a alta probabilidade para boa coleta de CPP com poucos procedimentos de leucaféreses;
- Pacientes que foram mobilizados com CY na dose de 4g/m², apresentaram recuperação leucocitária mais rápida;
- A recuperação leucocitária precoce, principalmente quando se utiliza CY dose de 4 g/m², mostrou ser um importante preditor para poucos procedimentos de leucaféreses, para se coletar a quantidade desejada de células CD34⁺;
- Quando foram necessários maior número de procedimentos de leucaféreses, para se coletar o alvo de células CD34⁺, coletou-se maior quantidade de células mononucleadas e menor quantidade de células CD34⁺;
- Não houve correlação entre as variáveis "idade", "diagnóstico", "radioterapia prévia" e "tipo de fator de crescimento hemopoioético (G ou GM-CSF)" e as variáveis "dias para recuperação leucocitária após quimioterapia de mobilização" e "número de leucaféreses para se coletar a quantidade desejada de células CD34⁺";

- Não houve influência da idade, do número de ciclos quimioterápicos prévios, do tratamento radioterápico anterior ou do tipo de fator de crescimento hemopoiético (G ou GM-CSF), para a obtenção das células CD34⁺;
- Os procedimentos de mobilização e coleta das CPP foram factíveis nos pacientes portadores de neoplasias hematológicas malignas avançadas e previamente tratados com quimioterapia e/ou radioterapia;
- Os regimes com CY 4 ou 7 g/m², "DHAP", "Mini-Ice" e VP-16, 2g/m², seguidos de fator de crescimento hemopoiético, foram efetivos para mobilizar suficiente quantidade de células CD34⁺ para o sangue periférico, viabilizando sua coleta por leucaférese;
- O parâmetro adotado para o início das coletas por leucaférese, de contagem leucocitária acima de $1,0 \times 10^9/L$, foi adequado e promoveu coletas efetivas;
- A toxicidade, os efeitos colaterais e a morbidade dos procedimentos de mobilização e coleta das células CD34⁺, em pacientes onco-hematológicos, foram mínimos, neste grupo seqüencial analisado;
- O impacto dos procedimentos de leucaféreses sobre os parâmetros hematológicos nos pacientes, não foi significativo;
- Os procedimentos de leucaférese foram seguros, efetivos e seletivos para a coleta das células CD34⁺.

VII. Referências Bibliográficas

- ABRAMSON, S.; MILLER R.G.; PHILIPS, R.A. - The identification in adult bone marrow of pluripotent and restricted stem cells of the myeloid and lymphoid systems. *J. Exp. Med.*, **145**:1567-79, 1977.
- APPELBAUM, F.R.; HERZIG, G.P.; GRAW, R.G.; BULL, M.I.; BOWLES, C.; GORIN, N.C.; DEISSEROTH, A.B. - Study of cell dose and storage time on engraftment of cryopreserved autologous bone marrow in a canine model. *Transplantation*, **26**(4):245-8, 1978.
- ARMITAGE, P. & BERRY, G. - **Statistical Methods in Medical Research**. 3 ed. Oxford, 1994.
- AUER, R.L.; HOLTOM, P.; SMITH, H.; FEGAN, C.D.; MILLIGAN, D.W. - Circulating CD34+ counts and apheresis planning. *Hematol Oncol*, **16**(2):69-75, 1998.
- AZEVEDO, W.M.; ARANHA, F.J.; GOUVEA, J.V.; VIGORITO, A.C.; MARQUES, J.F.C.; EID, K.A.; AZEVEDO, A.M.; SOUZA, C.A. - Allogeneic transplantation with blood stem cells mobilized by rhG-CSF for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*, **16**:647-53, 1995.
- BARRET, A.J.; LONGHURST, P.; SNEATH, P.; WATSON, J.G. - Mobilization of CFU-C by exercise and ACTH induced stress in man. *Exp Hematol*, **6**:590-4, 1978.
- BELLUCCI, R.; PROPRIS, M.S.D.; BUCCISANO, F.; LISCI A.; LEONE, G.; TABILIO, A.; FABRITIS, P. - Modulation of VLA-4 and L- Selectin expression on normal CD34+ cells during mobilization with G-CSF. *Bone Marrow Transplant*, **23**(1):1-8, 1999.

- BENDER, J.G. - Harvesting of peripheral blood stem cells with the Fenwall CS 3000 Plus cell separator and a small volume collection chamber. *Intern J Cell Clon*, **10**(suppl 1):79, 1992.
- BENSINGER, W.; APPELBAUM, F.R.; ROWLEY, S.; STORB, R.; SANDERS, J.; LILLIBY, K.; GOOLEY, T.; DEMIRER, T.; SCHIFFMAN, K.; WEAVER, C.; BUCKNER, C.D. - Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. *J Clin Oncol*, **13**:2547-55, 1995.
- BENSINGER, W.I.; LONGIN, K.; APPELBAUM, F.R.; ROWLEY, S.; WEAVER, C.; LILLIBY, K.; GOOLEY, T.; LYNCH, M.; HIGANO, T.; KLARNET, J.; CHAUNCEY, T.; STORB, R.; BUCKNER, C.D. - Peripheral blood stem cell (PBSC) collected after recombinant granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF: na analysis of factors correlating with the tempo of engraftment after transplantation. *Br J Haematol*, **87**:825-31, 1994.
- BENSINGER, W.I.; SINGER, J.; APPELBAUM, F.R.; LILLEBY, K.; LONGIN, K.; ROWLEY, S.; CLARKE, E.; CLIFT, R.; HANSEN, J.; SHIELDS, T.; STORB, R.; WEAVER, C.; WEIDEN, P.; BUCKNER, C.D. - Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant granulocyte stimulationg factor. *Blood*, **81**:3158-63, 1993.
- BERENSON, R.J.; BENSINGER, W.I.; HILL, R.S.; ANDREWS, R.G.; GARCIA-LOPEZ, J.; KALAMSZ, D.F.; STILL, B.J.; SPITZER, G.; BUCKNER, C.D.; BERNSTEIN, I.D.; THOMAS, E.D. - Engraftment after infusion of CD34⁺ marrow cells in patients with breast cancer or neuroblastoma. *Blood*, **77**:1717-22, 1991.

- BIERMAN, P.J.; VOSE, J.M.; ARMITAGE, J.O. - Autologous transplantation for Hodgkin's disease: coming of age? *Blood*, **83**:1161-4, 1994.
- BOIRON, J.M.; MARIT, G.; FABERES, C.; CONY-MAKHOUL, P.; FOURES, C.; FERRER, A.M.; CRISTOL, G.; SARRAT, A.; GIRAULT, D.; REIFFERS, J. - Collection of peripheral blood stem cells in multiple myeloma following single high-dose cyclophosphamide with and without recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rhGM-CSF). *Bone Marrow Transplant*, **12**:49-55, 1993.
- BOLWELL, B.J.; GOORMASTIC, M.; YANSSENS, T.; DANNLEY, R.; BAUCCO, P.; FISHLEDER, A. Comparison of G-CSF with GM-CSF for mobilization peripheral blood progenitor cells and for enhancing marrow recovery after autologous bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant*, **14**:913-8, 1994.
- BRADLEY, T.R. & METCALF, D. - The growth of mouse bone marrow cells *in vitro*. *Aust J Exp Biol Med Sci*, **44**:287-300, 1966.
- BRECHER, G. & CRONKITE, R.P. - Post-radiation parabiosis and survival in rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, **77**:292-4, 1951.
- BUCKNER, C.D.; PETERSEN, F.B.; BOLONESI, B.A. - Bone marrow donors. In: FORMAN, S.J.; BLUME, K.G.; THOMAS, E.D. - **Bone Marrow Transplantation**. Boston, MA. Blackwell Scientific Publications, 1994. P.259-70.
- CAGNONI, P.J. & SHPALL, E.J. - Mobilization and selection of CD34-positive hematopoietic progenitors. *Blood Rev*, **10**:1-7, 1996.

- CARACCIOLO, D.; GAVAROTTI, P.; AGLIETTA, M.; BONDESAN, P.; FALDA, M.; GALLO, E.; LOCATELLI, F.; NOVARINO, A.; PAOLINO, F.; SANAVIO, F. - High-dose sequential (HDS) chemotherapy with blood and marrow cell autograft as salvage treatment in very poor prognosis, relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, **12**:621-5, 1993.
- CARELLA, A.M. & FRASSONI, F. - ICE, mini-ICE or high-dose Hydroxyurea to mobilise Philadelphia [Ph]-negative PBPC in chronic myelogenous leukaemia. *Br J Haematol*, **95**:213-4, 1996.
- CARELLA, A.M.; CELESTI, L.; LERMA, E.; DEJANA, A.; FRASSONI, F. - Stem cell mobilisation for autografting in chronic myeloid leukaemia. *Blood Rev*, **11**:154-9, 1997.
- CAVINS, J.A.; KASAKURA, S.; THOMAS, E.D.; FERREBEE, J.W. - Recovery of lethally irradiated dogs following infusion of autologous marrow stored at low temperature in dimethyl-sulphoxide. *Blood*, **20**:730-4, 1962.
- CLINE, M.J. & GOLDE, D.W. - Mobilization of hematopoietic stem cells (CFU-C) into the peripheral blood of man by endotoxin. *Exp Hematol*, **5**:186-90, 1977.
- COMENZO, R.L.; VOSBURGH, E.; WEINTRAUB, L.R.; TANSAN, S.; ARKIN, C.F.; WRIGHT, D.G. - Collection of mobilized blood progenitor cells for hematopoietic rescue by large-volume leukapheresis. *Transfusion*, **35**(6):493-7, 1995.
- CRAIN, M.R.; MEWISSEN, M.W.; OSTROWSKI, G.J.; PAZ-FUMAGALLI, R.; BERES, R.A.; WERTZ, R.A. - Fibrin sleeve stripping for salvage of failing hemodialysis catheters: technique and initial results. *Radiology*, **198**:41-4, 1996.

- CYN Shi, O.; SATOH, K.; SHIMONAKA, Y.; HATTORI, K.; NOMURA, H.; IMAI, N.; HIRASHIMA K – Reduced response to granulocyte colony-stimulating factor in *WW^v* and *SL/SL^d* mice. *Leukaemia*, **5**:75-7, 1991.
- D'ARENA, G.; SCALZULLI, P.; MUSTO, P. - Circulating hematopoietic progenitor cells in leukapheresis: Flow cytometric estimation. *Haematologica*, **81**:95-6, 1996.
- D'ARENA, G.; CASCAVILLA, N.; MUSTO, P.; GRECO, M.; DI MAURO, L.; CARELLA, A.M.; DELLO IACONO, N.; CAROTENUTO, M. - Flow cytometric characterization of CD34+ hematopoietic progenitor cells in mobilized peripheral blood and bone marrow of cancer patients. *Haematologica*, **81**:216-23, 1996.
- D'ARENA, G.; MUSTO, P.; CAROTENUTO, M. – When to perform peripheral blood progenitor cell collection in hematological patients? *Haematologica*, **82**:124-5, 1997.
- D'ARENA, G.; MUSTO, P.; DI MAURO, L.; CASCAVILLA N.; IACONO, N.D.; SCALZULLI, P.R.; MATERA, R.; CAROTENUTO, M - Predictive parameters for mobilised peripheral blood CD34+ progenitor cell collection in patients with haematological malignancies. *Am J Haematol*, **58**:255-62, 1998.
- DE ARRIBA, F.; ORTUÑO, F.; RIVERA, J.; HERAS, I.; FUNES, C.; MORALEDA, J.M.; VICENTE, V. - The follow-up of the mobilization of circulating hematopoietic progenitors cells by granulocyte growth factor (G-CSF) using flow cytometry. *Med. Clin (Barc)*, **104**:41-4, 1995.
- DE LUCA, E.; SHERIDAN, W.P.; WATSON, D. - Prior chemotherapy does not prevent effective mobilisation by G-CSF of peripheral blood progenitor cells. *Br J Cancer*, **66**:893-9, 1992.

- DE SOUZA, C.A. & MARQUES, J.F.C. – Editorial: O transplante da célula progenitora periférica (TCPP): seu significado na terapêutica celular de nossos dias. *Bol Soc Bras Hematol Hemat*, **20**(178):47-50, 1998.
- DEL MONTE, C.; BASSO, P.; CONSOLI, P.; COSSUTTA, M.; MORARA, R.; PESCAROLLO, A.; LANTI, T. - Collection of peripheral blood stem cells by apheresis with continuous flow blood cell separator Dideco Vivacell. *Haematologica*, **75**:18-21, 1990.
- DODDS, A.J. & Ma, D.D.F. – Apheresis in bone marrow transplantation. In: VALBONESI, M.; PINEDA, A.A.; BIGGS, J.C. – **Therapeutic Hemapheresis**. Milano. Wichtig Editore, 1986. P.163-70.
- DREGER, P.; KLÖSS, M.; PETERSEN, B.; HAFERLACH, T.; LOFFLER, H.; LOEFFLER, M.; SCHMITZ, N. - Autologous progenitor cell transplantation: Prior exposure to stem cell-toxic drugs determines yield and engraftment of peripheral blood progenitor cell but not of bone marrow grafts. *Blood* **86**:3970-8, 1995.
- DREGER, P.; MARQUARDT, P.; HAFERLACH, T.; JACOBS, S.; MULVERSTEDT, T.; ECKSTEIN, V.; SUTTORP, M.; LOFFLER, H.; MULLER-RUCHHOLTZ, W.; SCHMITZ, N. - Effective mobilisation of peripheral blood progenitor cells with 'Dexa-BEAM' and G-CSF: timing of harvesting and composition of the leukapheresis product. *Br J Cancer*, **68**:950-7, 1993.
- DREYFUS, F.; LEBLOND, V.; BELANDER, C.; GABARRE, J.; SUTTON, L.; BOCCACCIO, C.; QUARRE, M.C.; RIBRAG, V.; GOY, A. - Peripheral blood stem cell collection and autografting in high risk lymphomas. *Bone Marrow Transplant*, **10**:409-13, 1992.

- DUHRSEN, U.; VILLEVAL, J.L.; BOYD, J.; KANNOURAKIS, G.; MORSTYN, G.; METCALF, D. – Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood*, **72**:2074-9, 1988.
- DURIE, B.G.M. & SALMON, S.E. – A clinical staging system for multiple myeloma. *Cancer*, **36**:842-54, 1975.
- FERMAND, J.P.; CHEVRET, S.; RAVAUD, P.; DIVINE, M.; LEBLOND, V.; DREYFUS, F.; MARIETTE, X.; BROUET, J.C. – High-dose chemoradiotherapy and autologous blood stem cell transplantation in multiple myeloma: results of a phase II trial involving 63 patients. *Blood*, **82**:2005-9, 1993.
- FORD, C.D.; PACE, N.; LEHMAN, C. – Factors affecting the efficiency of collection of CD34- positive peripheral blood cells by a blood cell separator. *Transfusion*, **38**:1046-50, 1998.
- FUKUDA, M.; KOJIMA, S.; MATSUMOTO, K.; MATSUYAMA, T. – Autotransplantation of peripheral blood stem cells mobilized by chemotherapy and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in childhood neuroblastoma and non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol*, **80**:327-31, 1992.
- GANDHI, M.K.; JESTICE, K.; SCOTT M.A.; BLOXHAM, D.; BASS, G.; MARCUS, R.E. – The minimum CD34 threshold depends on prior chemotherapy in autologous peripheral blood stem cell recipients. *Bone Marrow Transplant*, **23**:9-13, 1999.
- GIANNI, A.M. – Where do we stand with respect to the use of peripheral blood progenitor cells? *Ann Oncol*, **5**:781-4, 1994.

- GIANNI, A.M.; BREGNI, M.; SIENA, S.; MAGNI, M.; DI NICOLA, M.; LOMBARDI, F.; TARELLA, C.; PILERI, A.; BONADONNA, G. - Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor of granulocyte colony-stimulating factor infusion makes high-dose etoposide a safe outpatient regimen that is effective in lymphoma and myeloma patients. *J Clin Oncol*, **10**:1955-62, 1992.
- GIANNI, A.M.; SIENA, S.; BREGNI, M.; LOMBARDI, F.; GANDOLA, L.; DI NICOLA, M.; MAGNI, M.; PECCATORI, F.; VALAGUSSA, P.; BONADONNA, G. - High-dose sequential chemo-radiotherapy with peripheral blood progenitor cell support for relapsed or refractory Hodgkin's disease—a 6-year update. *Ann Oncol*, **4**:889-91, 1993.
- GIANNI, A.M.; SIENA, S.; BREGNI, M.; TARELLA, C.; STERN, A.C.; PILERI, A.; BONADONNA, G. - Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to harvest circulating hematopoietic stem cells for autotransplantation. *Lancet*, **2**:580-4, 1989.
- GOLDMAN, J.M.; CATOVSKY, D.; HOWS, J.; SPIERS, A.S.D.; GALTON, D.A.G. - Cryopreserved peripheral blood cells functioning as autografts in patients with chronic granulocytic leukaemia in transformation. *Br Med J*, **1**:1310-13, 1979.
- GOLDSCHIMIDT, H.; HEGENBART, U.; HAAS, R.; HUNSTEIN, W. - Mobilisation of peripheral blood progenitor cells with high-dose cyclophosphamide (4 or 7 g/m²) and granulocyte colony-stimulating factor in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant*, **17**:691-7, 1996.

- GOLDSCHIMIDT, H.; HEGENBART, U.; WALLMEIER, M.; HOHAUS, S.; HAAS, R. - Factors influencing collection of peripheral blood progenitor cells following high-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol*, **98**:736-44, 1997.
- GOODMAN, J.W. & HODGSON, G.S. - Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood*, **19**:702-14, 1962.
- GORDON, M.Y. & BLACKETT, N.M. - Some factors determining the minimum number of cells required for successful clinical engraftment. *Bone Marrow Transpl*, **15**:659-62, 1995.
- GORIN, N.C.; HERZIG, G.; BULL, M.I.; GRAW, R.G. - Long-term preservation of bone marrow and stem cell pool in dogs. *Blood*, **51**(2):257-65, 1978.
- GUENIER, C.; FERREIRA, J.; PECTOR, J.C. - Prolonged venous access in cancer patients. *Eur J Surg Oncol*, **15**:553-5, 1989.
- GUNJI, Y.; NAKAMURA, M.; HAGIWARA, T.; HAYAKAWA, K.; MATSUSHITA, H.; OSAWA, H.; NAGAYOSHI, K.; NAKAUCHI, H.; YANAGISAWA, M.; MIURA, Y. - Expression and function of adhesion molecules on human hematopoietic stem cells: CD34+ LFA-1- cells are more primitive than CD34+ LFA-1+ cells. *Blood*, **80**(2):429-36, 1992.
- HAAS, R.; HOHAUS, S.; EGERER, G.; EHRHARDT, R.; WITT, B.; HUNSTEIN, W. - Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rhGM-CSF) subsequent to chemotherapy improves collection of blood stem cells for autografting in patients not eligible for bone marrow harvest. *Bone Marrow Transplan*, **9**:459-65, 1992.

- HAAS, R.; MOHLE, R.; FRUHAUF, S.; GOLDSCHMIDT, H.; WITT, B.; FLENTJI, M.;
WANNERMACHER, M.; HUNSTEIN, W. - Patient characteristics associated with
successful mobilising and autografting of peripheral blood progenitor cells in
malignant lymphoma. *Blood*, **83**:3787-94, 1994.
- HAINES, M.E.; GOLDMAN, J.M.; WORSLEY, A.M.; MCCARTHY, D.M.; WYATT, S.E.;
DOWDING, C.; KEARNEY, L.; TH'NG, K.H.; WAREHAM, N.J.; POLLOCK, A. -
Chemotherapy and autografting for chronic granulocytic leukaemia in
transformation: Probable prolongation of survival for some patients. *Br J Haematol*,
58:711-21, 1984.
- HANSSON, M.; SVENSSON, A.; ENGERVALL, P.; BJORKHOL M.; GRUBER A.;
SODERSTROM, T. - Increase of monocytes predicts mobilization of peripheral
stem and progenitor cells after chemotherapy followed by G-CSF administration.
Eur J Hematol, **54**:321-8, 1995.
- HAWKINS, T.E. & JUTTNER, C.A. - Blood cell transplantation. *Curr Opin Oncol*,
7(2):122-9, 1995.
- HERSHKO, C.; CO, W.G.; GALE, R.P.; CLINE, M.J. - Cure of aplastic anaemia in
paroxysmal nocturnal hemoglobinuria by marrow transfusion from identical
twin: Failure of peripheral leucocyte transfusion to correct marrow aplasia. *Lancet*,
1(8123):945-7, 1979.
- HILLYER, C.D.; LACKEY, D.A.; HART, K.K.; STEMPORE, L.L.; BRAY, R.A.; BENDER,
J.G.; DONNENBERG, A.D. - CD34+ progenitor and colony-forming units-
granulocyte macrophage are recruited during large-volume leukapheresis and
concentrated by counterflow centrifugal elutriation. *Transfusion*, **33**:316-21, 1993.

- HIURA, M.; MURAKAMI, J.; SHIGEMASA, K.; FUJIOKA, T.; YOKOYAMA, T.; NOGAWA, T.; CHIBA, T.; SHIMOKAWA, T. - Study on peripheral blood stem cells mobilized by different chemotherapies with granulocyte-colony stimulating factor in ovarian cancer. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*, **47**(3):257-63, 1995.
- JUTTNER, C.A.; TO, L.B.; HAYLOCK, D.N.; BRANFORD, A.; KIMBER, R.J. - Circulating autologous stem cells collected in very early remission from acute non-lymphoblastic leukaemia produce a prompt but incomplete haematopoietic reconstitution after high-dose melphalan or supralethal chemoradiotherapy. *Br J Haematol*, **61**:739-45, 1985.
- JUTTNER, C.A.; TO, L.B.; HAYLOCK, D.N.; DYSON, P.G.; THORP, D.; DART, G.W.; HO, J.Q.K.; HORVATH, N.; BARDY, P. - Autologous Blood Stem Cell Transplantation. *Transplant Proc*, **21**(1):2929-31, 1989.
- JUTTNER, C.A.; TO, L.B.; HO, J.Q.; BARDY, P.G.; DYSON, P.G.; HAYLOCK, D.N.; KIMBER, R.J. - Early lympho-hemopoietic recovery after autografting using peripheral blood stem cells in acute non-lymphoblastic leukemia. *Transplant Proc*, **20**(1):40-2, 1988.
- KESSINGER, A.; ARMITAGE, J.; LANDMARK, J.; WEISENBURGER, D.D. - Reconstitution of human hematopoietic function with autologous cryopreserved circulating stem cells. *Exp Hematol*, **14**:192-6, 1986.
- KESSINGER, A.; ARMITAGE, J.O.; LANDMARK, J.D.; SMITH, D.M.; WEISENBURGER, D.D. - Autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation restores hematopoietic function following ablative therapy. *Blood*, **71**(3):723-7, 1988.

- KESSINGER, A.; ARMITAGE, J.O.; SMITH, D.M.; LANDMARK, J.D.; BIERMAN, P.J.; WEISENBURGER, D.D. - High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for patients with lymphoma. *Blood*, **74**(4):1260-5, 1989.
- KETTERER, N.; SALLES, G.; MOULLET, I.; DUMONTET, C.; ELJAAFARI-CORBIN, A.; TREMISI, P.; THIEBLEMONT, C.; DURAND, B.; NEIDHARDT-BERARD, E.M.; SAMAHA, H.; RIGAL, D.; COIFFIER, B. - Factors associated with successful mobilisation of peripheral blood progenitor cells in 200 patients with lymphoid malignancies. *Br J Haematol*, **103**(1):235-42, 1998.
- KOBAYASHI, N.; KASAI, M.; MASAUZI, N.; OGASAWARA, M.; KIYAMA, Y.; NAOHARA, T.; HIGA, T.; HASHINO, S.; TANAKA, J.; IMAMURA, M. - Comparison of peripheral blood stem cells mobilized with granulocyte colony-stimulating factor with or without prior standard-dose chemotherapy in patients with malignancy. *Jpn J Clin Oncol*, **25**(6):250-7, 1995.
- KOHNO, A.; TAKEYAMA, K.; NARABAYASHI, M.; OKAMOTO, R.; ADACHI, I.; TOBINAI, K.; SHIMOYAMA, M. - Low-dose granulocyte colony-stimulating factor enables the efficient collection of peripheral blood stem cells after disease-oriented, conventional-dose chemotherapy for breast cancer, malignant lymphoma and germ cell tumor. *Bone Marrow Transplant*, **15**(1):49-54, 1995.
- KORBLING, M. - The role of stem cell mobilization in the scope of autologous blood stem cell transplantation. *Beitr Infusionsther*, **28**:233-41, 1991.

- KORBLING, M.; DORKEN, B.; HO, A.D.; PEZZUTO, A.; HUNSTEIN, W.; FLIEDNER, T.M. - Autologous transplantation of blood derived hemopoietic stem cells after myeloablative therapy in a patient with Burkitt's lymphoma. *Blood*, **67**:529-32, 1986.
- KORBLING, M.; FLIEDNER, T.M.; PFLIEGER, H. - Collection of large quantities of granulocyte macrophage progenitor cells (CFU-C) in man by means of continuous-flow leukapheresis. *Scand J Haematol*, **24**:22-8, 1980.
- KORBLING, M.; HUH, Y.O.; DURETT, A.; MIRZA, N.; MILLER, P.; ENGEL, H.; ANDERLINI, P.; VAN BESSEN, K.; ANDREEFF, M.; PRZEPIORKA, D. - Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34+ Thy-1dim) and lymphoid subsets, and possible predictors of engraftment and graft-versus-host disease. *Blood*, **86**(7):2842-8, 1995.
- KOTASEK D.; SHEPHERD, K.M.; SAGE, R.E.; DALE, B.M.; NORMAN, J.E.; CHARLES, P.; GRIGG, A.; PILLOW, A.; BOLTON, A. - Factors affecting blood stem cell collections after high-dose cyclophosphamide mobilization in lymphoma, myeloma and solid tumors. *Bone Marrow Transpl*, **9**:11-7, 1992.
- LANDAY Z, ROTSTEIN, C.; LUCEY, J.; FITZPATRICK, J. - Hickman-Broviac catheter use in cancer patients. *J Surg Oncol*, **26**:215-8, 1984.

- LANE, T.A.; LAW, P.; MARUYAMA, M.; YOUNG, D.; BURGESS, J.; MULLEN, M.; MEALIFE, M.; TERSTAPPEN, L.W.; HARDWICK, A.; MOUBAYED, M. - Harvesting and enrichment of hematopoietic progenitor cells mobilized into the peripheral blood of normal donors by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) or G-CSF: potential role in allogeneic marrow transplantation. *Blood*, **85**(1):275-82, 1995.
- LEIBUNDGUT, K.; VON ROHR, A.; BRULHART, K.; HIRTE, A.; ISCHI, E.; JEANNERET, C.; MUFF, J.; RIDOLFI—LUTHY, A.; WAGNER, H.P.; TOBLER, A. - The number of circulating CD34+ blood cells predicts the colony-forming capacity of leukapheresis products in children. *Bone Marrow Transplant*, **15**(1):25-31, 1995.
- LIN, J.S.; TZENG, C.H.; HU, H.Y.; YUNG, C.H. - Factors affecting progenitor cell yields using three tandem leukaphereses in previously treated malignancies. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih (Taipei)*, **61**(12):700-7, 1998.
- LOHRMANN, H.P.; SCHREML, W.; FLIEDNER, T.M.; HEIPEL, H. - Reaction of human granulopoiesis to high doses cyclophosphamide therapy. *Blut*, **38**:9-16, 1979.
- LONG, G.D.; NEGRIN, R.S.; HOYLE, C.F.; KUSNIERZ-GLAZ, C.R.; SCHRIBER, J.R.; BLUME, K.G.; CHAO, N.J. - Multiple cycles of high dose chemotherapy supported by hematopoietic progenitor cells as treatment for patients with advanced malignancies. *Cancer*, **76**:860-8, 1995.
- LUND, J.F. & TERSTAPPEN, L.W. - Differential surface expression of cell adhesion molecules during granulocyte maturation. *J Leuk Biol*, **54**:47-55, 1993.

- MAJOLINO, I.; MARCENO, R.; BUSCEMI, F.; SCIME, R.; VASTA, S.; INDOVINA, A.; PAMPINELLA, M.; CATANIA, P.; SANTORO, A. - Mobilization of circulating progenitor cells in multiple myeloma during VCAD therapy with or without rhG-CSF. *Haematologica*, **80**:108-14, 1995.
- MARCONI, M. - Separazione per centrifugazione: presupposti teorici. *Bolletino di Aggiornamento della Società Italiana di Emaferesi*, **1**:132-42, 1985.
- MARIT, G.; FABARES, C.; PICO, J.L.; BOIRON, J.M.; BOURHIS, J.H.; BRAULT, P.; BERNARD, P.; FOURES, C.; CONY-MAKHOUL, P.; PUNTOUS, M.; VEZON, G.; BROUSTET, A.; GIRAULT, D.; REIFFERS, J. - Autologous peripheral-blood progenitor-cell support following high-dose chemotherapy or chemoradiotherapy in patients with high-risk multiple myeloma. *J Clin Oncol*, **14**:1306-13, 1996.
- MARQUES, J.F.C. & DE SOUZA, C.A. - Coleta de células progenitoras periféricas por método de hemaféreses. *Bol Soc Bras Hematol Hemat*, **20**(178):75-80, 1998.
- MASSUMOTO, C.M.; MIZUKAMI, S.; CAMPOS, M.F.; SILVA, L.A.G.; TUTYIA, I.; BEITLER, B.; MELO, N.; CHAMONE, D.F.; DULLEY, F. - Determinação de células CD34 positivas no SP: otimização de método utilizando-se associadamente anticorpi monoclonal anti CD-14. *RBAC*, **29**:89-92, 1997.
- McCREDIE, K.B.; HERSH, E.M.; FREIREICH, E.J. - Cells capable of colony formation in the peripheral blood of man. *Science*, **171**:293-4, 1971.
- METCALF, D. - The basic biology of haemopoiesis. In: **The Molecular Control of Blood Cells**. London. Harvard University Press, 1998. p.1-18.

- METCALF, D. - The colony stimulating factors. Discovery, development, and clinical applications. *Cancer*, **65**(10):2185-95, 1990.
- MOHLE, R.; HAAS, R.; HUNSTEIN, W. - Expression of adhesion molecules and c-kit on CD34⁺ cells: comparison of cytokine-mobilized blood stem cells with normal bone marrow and peripheral blood. *J Hematother*, **2**:483-9, 1993.
- MOSKOWITZ, C.H.; GLASMANN, J.R.; WUEST, D.; MASLAK, P.; REICH, L.; GUCCIARDO, A.; COADY-LYONS, N.; ZELENETZ, A.D.; NIMER, S.D. - Factors affecting mobilization of peripheral blood progenitor cells in patients with lymphoma. *Clin Cancer Res*, **4**(2):311-6, 1998.
- NAKAGAWA, H.; FUJII, H.; ARIYAMA, Y.; SONODA, Y. - Peripheral blood stem cell collection with high dose etoposide. *Rinsho Ketsueki*, **36**:185-92, 1995.
- NEGRIN R.S.; KUSNIERZ-GLAZ, C.R.; STILL, B.J.; SCHRIBER, J.R.; CHAO, N.J.; LONG, G.D.; HOYLE, C.; HU, W.W.; HORNING, S.J.; BROWN, B.W. - Transplantation of enriched and purged peripheral blood progenitor cells from a single apheresis product in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*, **85**:3334-41, 1995.
- NOROL, F.; SCOTTO, F.; DUEDARI, N.; BEAUJEAN, F. - Peripheral blood stem cell collection with a blood cell separator. *Transfusion*, **33**:894-7, 1993.
- NOTHDURFT, W.; FLIEDNER, T.M.; CALVO, W.; FLAD, H.D.; HUGET, R.; KORBLING, M.; KRUMBACHER-VON LORINGHOFEN, K.; ROSS, W.M.; SCHNAPPAUF, H.P.; STEINBACH, I. - CFU-C populations in blood and bone marrow of dogs after lethal irradiation and allogeneic transfusion with cryopreserved blood mononuclear cells. *Scand J Haematol*, **21**:115-30, 1978.

- PAPAYANNOPOULOU, T. & NAKAMOTO, B. - Peripheralization of hemopoietic progenitors in primates treated with anti-VLA-4 integrin. *Proc Natl Acad Sci USA*, **90**:9374-8, 1993.
- PASSOS-COELHO, J.; BRAINE, H.G.; DAVIS, J.M.; HUELSKAMP, A.M.; SCHEPERS, K.G.; OHLY, K.; CLARKE, B.; WRIGHT, S.K.; NOGA, S.J.; DAVIDSON, N.E. - Predictive factors for peripheral-blood progenitor cell collections using a single large volume leukapheresis after cyclophosphamide and granulocyte-macrophage colony stimulating factor mobilization. *J Clin Oncol*, **13**:705-14, 1995.
- PETERS, W.P.; ROSNER, G.; ROSS, M.; VREDENBIRGH, J.; MEISENBERG, B.; GILBERT, C.; KURTZBERG, J. - Comparative effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on priming peripheral blood progenitor cells for use with autologous bone marrow after high-dose chemotherapy. *Blood*, **81**:1709-19, 1993.
- PIERELLI, L.; MENICCHELLA, G.; PAOLONI, A.; VITTORI, M.; FODDAI, M.L.; SERAFINI, R.; RUMI, C.; MITSCHULAT, H.; ROSSI, P.L.; SCAMBIA, G.; TEOFILI, L.; SICA, S.; LEONI, G.; BIZZI, B. - Evaluation of a novel automated protocol for the collection of peripheral blood stem cells mobilized with chemotherapy or chemotherapy plus G-CSF using the Fresenius AS 104 cell separator. *J Hematother*, **2**:145-53, 1993.
- PRESS, O.W.; RAMSEY, R.G.; LARSON, E.B.; FEFER, A.; HICKMAN, R.O. - Hickman catheter infections in patients with malignancies. *Medicine*, **63**:189-200, 1984.
- RAO, C.R. - **Linear models: least squares and alternatives**. New York. Springer, 1995. 352p.

- REIFFERS, J.; BERNARD, P.; DAVID, B.; VEZON, G.; SARRAT, A.; MARIT, G.; MOULINIER, J.; BROUSTET, A. – Successful autologous transplantation with peripheral blood hemopoietic cells in a patient with acute leukemia. *Exp Hematol*, **14**:312-5, 1986.
- RICHMAN, C.M.; WEINER, R.S.; YANKEE, R.A. - Increasing in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood*, **47**:1031-9, 1976.
- ROTSTEIN C, HIGBY, D.; KILLION, K.; POWELL, E. - Relationship of surveillance culture to bacteraemia and fungaemia in bone marrow transplant recipients with Hickman or Broviac catheters. *J Surg Oncol*, **39**:154-8, 1988.
- ROWLINGS, P.A.; BAYLY, J.L.; RAWLING, C.M.; JUTTNER, C.A.; To, L.B. - A comparison of peripheral blood stem cell mobilisation after chemotherapy with cyclophosphamide as a single agent in doses of 4 g/m² or 7 g/m² in patients with advanced cancer. *Aust N Z J Med*, **22**:660-4, 1992.
- RUSSEL, J.A.; LUIDER, J.; WEAVER, M.; BROWN, C.; SELINGER, S.; RAILTON, C.; KARLSSON, L.; KLASSEN, J. – Collection of progenitor cells for allogeneic transplantation from peripheral blood of normal donors. *Bone Marrow Transplant*, **15**:111-5, 1995.
- SANTINI, G.; CONGIU, A.M.; NATI, S.; PIERLUIGI, D.; SPRIANO, M.; CHISESI, T.; ROSSI, E.; VIMERCATI, R.; SERTOLI, M.R.; FIGARI, O.; GOBBI, M.; PIAGGIO, G.; VASSALLO, F.; BENVENUTO, F.; SORACCO, M.; MIGLINO, M.; BRUNI, R.; RAVETTI, J.L.; TRUINI, M. - Mobilisation/transplantation of peripheral blood progenitor cells for aggressive non-Hodgkin's lymphoma with marrow involvement. *Leukaemia*, **10**:S88-S91, 1996.

- SANTINI, G.; DE SOUZA, C.A.; CONGIU, A.M.; NATI, S.; MARINO, G.; SORACCO, M.; SERTOLI, M.R.; RUBAGOTTI, A.; SPRIANO, M.; VASSALLO, F.; ROSSI, E.; VIMERCATI, R.; PIAGGIO, G.; FIGARI, O.; BENVENUTO, F.; ABATE, M.; TRUINI, M.; RAVETTI, J.L.; RIBIZZI, I.; DAMASIO, E. - High-dose cyclophosphamide followed by autografting can improve the outcome of relapsed or resistant non-Hodgkin's lymphomas with involved or hypoplastic bone marrow. *Leuk lymphoma*, **33**:321-30, 1999.
- SANTOIS, B.; FRAIPONT, V.; BAUDOUX, E.; FASSOTTE, M.F.; HERRMANNE, J.P.; JERUSALEM, G.; BOURS, V.; BOSQUEE, L.; SCHAAF-LAFONTAINE, N.; PAULUS, J.M.; SONDAG, D.; FILLET, G.; BEGUIN, Y. - Peripheral blood progenitor cell collections in cancer patients: analysis of factors affecting the yields. *Haematologica*, **84**(4):342-9, 1999.
- SCHWELLA, N.; SIEGERT, W.; BEYER, J.; RICK, O.; ZINGSEM, J.; ECKSTEIN, R.; SERKE, S.; HUHN, D. - Autografting with blood progenitor cells: predictive value of preapheresis blood cell counts on progenitor cell harvest and correlation of the reinfused cell dose with hematopoietic reconstitution. *Ann Hematol*, **71**:227-34, 1995.
- SHIMAZAKI, C.; YAMAGATA, M.; TATSUMI, T.; HIRATA, T.; OKU, N.; ASHIHARA, E.; GOTO, H.; INABA, T.; FUJITA, N.; HARUYAMA, H.; NAKAGAWA, M. - Mobilization of peripheral blood progenitor cells by high-dose Ara C, VP-16 and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: factors affecting progenitor cell yields. *Bone Marrow Transplant*, **15**:763-7, 1995.

- SHIMIZU, Y.; FUKUDA, T.; SHIMAZU, C.; NISIDA, J.; MIYAZAWA, Y. - Evaluation of routine blood cell counts in predicting the mobilization of CD34 positive cells. *Rinsho Byori*, **46**(6):611-6, 1998.
- SIENA, S.; BREGNI, M.; B'RANDO, B.; BELLI, N.; RAVAGNANI, F.; GANDOLA, L.; STERN, A.C.; LANSDORP, P.M.; BONADONNA, G.; GIANNI, A.M. - Flow cytometry for clinical estimation of circulating hematopoietic progenitor for autologous transplantation in cancer patients. *Blood*, **77**:400-9, 1991.
- SIENA, S.; BREGNI, M.; BRANDO, B.; RAVAGNANI, F.; BONADONNA, G.; GIANNI, A.M. - Circulation of CD34⁺ hematopoietic stem cells in the peripheral blood of high-dose cyclophosphamide treated patients: enhancement by intravenous recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor. *Blood*, **74**:1905-14, 1989.
- SIENA, S.; BREGNI, M.; DI NICOLA, M.; RAVAGNANI, F.; PECCATORI, F.; GANDOLA, L.; LOMBARDI, F.; TARELLA, C.; BONADONNA, G.; GIANNI, A.M. - Durability of hematopoiesis following autograftin with peripheral blood hematopoietic progenitors. *Ann Oncol*, **5**:935-41, 1994.
- SIMMONS, P.J.; LEAVESLEY, D.I.; LEVESQUE, J.P.; SWART, B.W.; HAYLOCK, D.N.; TO, L.B.; ASHMAN, L.K.; JUTTNER, C.A. - The mobilization of primitive hemopoietic progenitors into the peripheral blood. Polyfunctionality of hemopoietic regulators: The Metcalf Forum. *Stem Cells*, **12**:187, 1994.

- STARZL, T.E.; DEMETRIS, A.J.; TRUCCO, M.; RICORDI, C.; ILDSTAT, S.; TERAZAKI, P.I.; MURASE, N.; KENDALL, R.S.; KOCOVA, M.; RUDERT, W.A.; ZEEVI, A.; THIEL, D.V. - Chimerism after liver transplantation for type IV glycogen storage disease and type I Gaucher's disease. *N Engl J Med*, **328**:745-9, 1993.
- SUTHERLAND, D.R.; KEATING, A.; NAYAR, R.; ANANIA, S.; STEWART, A.K. - Sensitive detection and enumeration of CD34⁺ cells in peripheral and cord blood by flow cytometry. *Exp Hematol*, **22**:1003-10, 1994.
- TAKAUE, Y.; KAWANO, Y.; ABE, T.; OKAMOTO, Y.; SUZUE, T.; SHIMIZU, T.; SAITO, S.; SATO, J.; MAKIMOTO, A.; NAKAGAWA, R. - Collection and transplantation of peripheral blood stem cells in very small children weighting 20 kg or less. *Blood*, **86**:372-80, 1995.
- TARELLA, C.; FERRERO, D.; BREGNI, M.; SIENA, S.; GALLO, E.; PILERI, A.; GIANNI, A.M. - Peripheral blood expansion of early progenitor cells after high-dose cyclophosphamide and rhGM-CSF. *Eur J Cancer*, **27**:22-7, 1991.
- TAVASSOLI, M. & HARDY, C.L. - Molecular basis of homing of intravenously transplanted stem cells. *Blood*, **76**:1059-70, 1990.
- TO, L.B, ROBERTS, M.M.; HAYLOCK, D.N.; DYSON, P.G.; BRANDFORD, A.L.; THORP, D.; HO, J.Q.K.; DART, G.W.; NORVATH, N.; DAVY, M.L.J.; ABDI, E.; JUTTNER, C.A. - Comparison of hematological recovery times and supportive care requirements of autologous recovery phase peripheral blood stem cell transplants, autologous bone marrow and allogeneic bone marrow transplants. *Bone Marrow Transplant*, **9**:279-84, 1992.

- TO, L.B.; HAYLOCK, D.N.; DOWSE, T.; SIMMONS, P.J.; TRIMBOLIS, H.; ASHMAN, L.K.; JUTTNER, C.A. - A comparative study of the phenotype and proliferative capacity of peripheral blood CD34+ cells mobilized by four different protocols and those of steady-phase PB and bone marrow CD34+ cells. *Blood*, **84**:2930-9, 1994.
- TO, L.B.; HAYLOCK, D.N.; SIMMONS, P.J.; JUTTNER, C.A. - The biology and clinical uses of blood stem cells. *Blood*, **89**: 2233-58, 1997.
- TO, L.B.; RAWLING, C.; ANDARY, C.; RAWLING, T.; HAYLOCK, A. THORP D.; DYSON, P.; JUTTNER, C.A. - The efficacy of sequential/combined IL-3/GM-CSF administration in peripheral blood (PB) progenitor mobilization. *Blood*, **82**(suppl1):319a, 1993.
- TO, L.B.; SHEPPARD, K.M.; HAYLOCK, D.N.; DYSON, P.G.; CHARLES, P.; THORPE, D.L.; DALE, B.M.; DART, G.W.; ROBERTS, M.M.; SAGE, R.E.; JUTTNER, C.A. - Single high doses of cyclophosphamide enable the collection of high numbers of hemopoietic stem cells from the peripheral blood. *Exp Hematol*, **18**:442-7, 1990.
- TORESNMA, R.; RAYMAKERS, R.A.P.; vanKOOYK, Y.; FIGDOR, C.G. - Induction of LFA-1 on pluripotent CD34+ bone marrow cells does not affect lineage commitment. *Blood*, **87**:4120-8, 1996.
- TRICOT, G.; JAGANNATH, S.; VESOLE, D.; NELSON, J.; TINDLE, S.; MILLER, L.; CHESON, B.; CROWLEY, J.; BARLOGIE, B. - Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: Identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. *Blood*, **85**:588-96, 1995.

- UDOMSAKDI, C.; LANSDORP, P.M.; HOGGE, D.E.; EAVES, A.C.; EAVES, C.J. - Characterisation of primitive hematopoietic cells in normal human peripheral blood. *Blood*, **80**:2513-21, 1992.
- VALBONESI, M. - Hemopoietic stem cells: Technical and methodological considerations. *Immunohematology*, **11**:58-93, 1993.
- VELASQUEZ, W.S.; CABANILLAS, F.; SALVADOR, P.; McLAUGHLIN, P.; FRIDRIK, M.; TUCKER, S.; JAGANNATH, S.; HAGEMEISTER, F.B.; REDMAN, J.R.; SWAN, F. - Effective salvage therapy for lymphoma with cisplatin in combination with high-dose Ara-C and dexamethasone (DHAP). *Blood*, **71**:117-22, 1988.
- VERMA, D.S.; FISHER, R.; SPITZER, G.; ZANDER, A.R.; McCREDIE, K.B.; DICKE, K.A. - Diurnal changes in circulating myeloid progenitor cells in man. *Am J Hematol*, **9**:185-92, 1980.
- VIGORITO, A.C.; AZEVEDO, W.M.; MARQUES, J.F.C.; AZEVEDO, A.M.; EID, K.^aB.; ARANHA, F.J.P.; LORAND-METZE, I.; OLIVEIRA, G.B.; CORREA, M.E.P.; REIS, A.R.C.; MIRANDA, E.C.M.; DE SOUZA, C.A. - A randomised, prospective comparison of allogeneic bone marrow and peripheral blood progenitor cell transplantation in the treatment of haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*, **22**:1145-51, 1997.
- WAGMAN, L.D. & NEIFELD, J.P. - Experience with the Hickman catheter: Unusual complications and suggestions for their prevention. *J Parenteral Enteral Nutrition*, **10**:311-5, 1986.

- WATTS, M.J.; SULLIVAN, A.M.; JAMIESON, E.; PEARCE, R.; FIELDING, A.; DEVEREUX, S.; GOLDSTONE, A.H.; LINCH, D.C. - Progenitor-cell mobilisation after low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor: an analysis of progenitor-cell quantity and quality and factors predicting for these parameters in 101 pretreated patients with malignant lymphoma. *J Clin Oncol*, **15**:535-46, 1997.
- WEIGHTMAN, N.C.; SIMPSON, E.M.; SPELLER, D.C.; MOTT, M.G. - Bacteraemia related to indwelling central venous catheters: prevention, diagnosis, and treatment. *Eur J Clin Microbiol Infec Dis*, **7**:125-9, 1988.
- WILLIAMS, D.A.; RIOS, M.; STEPHENS, C.; PATEL, V.P. - Fibronectin and VLA-4 in haemopoietic stem cell-microenvironment interactions. *Nature*, **352**:438-41, 1991.
- WILLIAMS, S.F.; BITRAN, J.D.; RICHARDS, J.M.; DeCRISTOPHER, P.J.; BARKER, E.; CONANT, J.; GOLOMB, H.M.; ORLINA, A.R. - Peripheral blood-derived stem cell collections for use in autologous transplantation after high-dose chemotherapy: an alternative approach. *Bone Marrow Transplant*, **5**:129-33, 1990.
- WOOD, D.G. - Developmental haemopoiesis. In: HARDISTY, R.M. & WEATHRALL, D.J. - **Blood and its disorders**. London. Blackwell, 1982. p75-98.
- YU, J.; LEISENRING, W.; BENSINGER, W.I.; HOLMBERG, L.A.; ROWLEY, S.D. - The predictive value of white cell or CD34+ cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion*, **39**:442-50, 1999.
- ZANDER, A.R. & COCKERILL, K.J. - Autologous transplantation with circulating hemopoietic stem cells. *J Clin Apheresis*, **3**:191-201, 1987.

ZANDER, A.R.; GRAY, K.N.; HESTER, J.P.; JOHNSTON, D.A.; SPITZER, G.; RAULSTON, G.L.; McCREDIE, K.B.; JARDINE, J.H.; WU, J.; GLEISER, C.; CUNDIFF, J.; DICKE, K.A. – Rescue by peripheral blood mononuclear cells in dogs from bone marrow failure after total-body irradiation. *Transfusion*, **24**:42-5, 1984.

VIII. Anexos

Termo de Consentimento Informado para coleta de CPP

HEMOCENTRO UNICAMP

DIVISÃO DE HEMOTERAPIA

SEÇÃO DE PROCEDIMENTOS ESPECIALIZADOS

TERMO DE CONSENTIMENTO

_____, portador (a) do RG N° _____, consinto com o procedimento de doação de componentes sanguíneos por método de aférese em equipamento de fluxo contínuo a que serei submetido (a) no dia de hoje.

Declaro ainda que me foi explicado por _____ acerca da necessidade de anti-coagulação com solução de citrato de sódio, bem como os sintomas que o procedimento poderá ocasionar.

Campinas, __ de _____ de 19____.

assinatura do paciente ou responsável

Técnica para coleta de CPP em equipamento Dideco Vivacell BT 798 CE/A

- *Insumos:*

Kit 460F405; 2 frascos de solução fisiológica 0,9% (500 ml e 250 ml); 1 ou mais frascos de anticoagulante ACD, fórmula A.

- *Técnica:*

Ligar o equipamento; Acoplar o kit, procedendo-se a identificação das bolsas de coleta; Acoplar o frasco de solução fisiológica de 500 ml junto à linha de retirada (paralela) e o de 250 ml na via de reinfusão (plasmática); Acoplar o frasco de anticoagulante na respectiva via; Apertar a tecla "PRIME" e acionar a bomba de retirada a 100 ml/min e a de anticoagulante para 1:8. Quando a solução fisiológica alcançar a bolsa de descarte, acionar a bomba de concentrado de hemácias a 100 ml/min, até que 75% da "bureta" retentora de ar, da via de reinfusão, esteja preenchida; Acionar a bomba de plasma a 100 ml/min, até que a solução fisiológica comece a gotejar na "bureta" e retirar o ar da via de reinfusão; Puncionar a via de reinfusão do paciente, coletar as amostras necessárias e acoplá-la ao kit, permitindo o gotejamento da solução fisiológica; Puncionar a via de retirada no paciente, fechar o soro fisiológico da via paralela à de retirada, ativar as teclas "PLASMA" e "START", seqüencialmente; Regular a velocidade de centrifugação para 1050 rpm e ativar a bomba de coleta do "buffy-coat" para 10 ml/min durante 2 minutos; Ativar as bombas de retirada e de plasma para 60 e 20 ml/min, respectivamente, regulando a bomba de anticoagulante para 1:12, a qual deverá decrescer gradativamente durante o procedimento até atingir a proporção de 1:16; Observar a tela da câmara de separação até surgir o nível de concentrado de hemácias, quando deverá ser acionada a bomba de coleta de "buffy-coat" a 3 ml/min; A regulagem para manter a coloração rósea clara é feita pelo controle da bomba de concentrado de hemácias; Quando surgir plasma na bolsa de descarte, apertar a tecla "CLAMP" e fechar a linha de solução fisiológica, mantendo em torno de 100 ml de plasma na respectiva bolsa; Manter o procedimento trocando as bolsas de coleta do "buffy-coat", sucessivamente; Quando o volume sangüíneo proposto for atingido, apertar a tecla "STOP" e fechar todas as bombas. Apertar a tecla "REINFUSÃO" e devolver plasma e hemácias ao paciente; Retirar a agulha da via de retirada, após ser coletada as amostras pós-procedimento; Após término da reinfusão, apertar a tecla "STOP" e retirar a agulha da via de reinfusão.

Técnica para coleta de CPP em equipamento Baxter CS 3000 plus

- *Insumos:*

Câmara de separação TNX 6 (azul) e de coleta SVCC (preta); kit 4R 2180 (soluções acopladas);

- *Técnica:*

Ligar o equipamento; Acoplar o kit, fechando as bolsas de transferência (CPP) e abrindo a de coleta de plasma; Programar no "software", opção "Special" 1, 2 ou 3, conforme o fluxo de retirada desejado (60, 50 ou 40 ml/min, respectivamente); Ativar "Master reset" e "MODE", acertando a concentração de anticoagulante para 1:11; Ativar "Priming" com "START"; Inverter o retentor de ar até enchê-lo com solução fisiológica; Enquanto o equipamento estiver realizando o "priming", acionar a tecla "EDIT", programando o "location 68", de acordo com o hematócrito do paciente e a tabela fornecida pelo fabricante; Após encerrado o "priming", abrir o "clamp" da via de retorno, até que a solução fisiológica chegue próximo à entrada da bolsa de coleta de amostras; Abrir o "clamp" da via de retirada, preenchendo-a com solução fisiológica; Proceder à identificação das bolsas; Após o "priming", programar a velocidade conforme as condições venosas, antropométricas e clínicas do paciente; Ativar a tecla "DISPLAY/EDIT" e teclar "↑" ou "↓" para programar o limite do volume sanguíneo a ser processado; Conectar as respectivas vias de reinfusão e retirada no catéter e acionar as teclas "MODE" e "START/RESUME", seqüencialmente; Após o término do primeiro "spillover", ir apertando a tecla "DISPLAY/EDIT" até chegar em "Interface Detector Baseline"; Apertar "ENTER" e "DISPLAY/EDIT" seqüencialmente; Quando necessário, coletar 100 a 200 ml de plasma nesta fase; Quando o volume sanguíneo processado atingir o valor desejado, apertar seqüencialmente as teclas "MODE" e "START", para se iniciar a reinfusão; Fechar a linha de retirada, coletar as amostras pós- procedimento e desconectar a agulha da via de retirada; Terminada a reinfusão, retirar a agulha respectiva; Abrir a câmara de coleta, apertar a tecla "START", liberando o "clamp" da bolsa de transferência de plasma, fazendo com que o produto escoe para a bolsa de coleta; Homogeneizar e transferir, por gravidade, o concentrado de CPP para as respectivas bolsas, coletando do "espaguete" amostras para análise de rendimento.

Técnica para coleta de CPP em equipamento Fresenius AS 104

- *Insumos:*

Kit C4Y; 1 frasco de 1000 ml de solução fisiológica 0.9% (2 acessos); 1 ou mais frascos de 500 ml de solução anticoagulante ACD, fórmula A.

- *Técnica:*

Ligar o equipamento, apertar as teclas "ENTER" e "↑", seqüencialmente, para selecionar a opção PBSC/LYM, apertando novamente a tecla "ENTER"; Acoplar o kit no equipamento, seguindo as orientações no "display", pelo acionamento da tecla "?"; Acoplar os frascos de anticoagulante e solução fisiológica nas respectivas vias; Acertar os níveis nas buretas do anticoagulante e solução fisiológica e apertar a tecla "PRIME"; Após terminado o "priming", apertar "ENTER" e ajustar para "PREPARE SEPARATION"; Fechar os "clamps" de retirada e reinfusão e ajustar o gotejamento das vias de solução fisiológica; Apertar "ENTER" e ajustar para "CONECT DONOR"; Puncionar a via de reinfusão e proceder a coleta das amostras; Conectar a linha da reinfusão e deixar gotejando lentamente; Puncionar a via de retirada, apertar "ENTER", abrir a bolsa do "prime", apertar novamente "ENTER", fechar a via de reinfusão, apertar novamente "ENTER" e "START"; Quando começar a reinfusão de hemácias, através de alarme sonoro e instruções no "display", fechar a bolsa do "prime", abrir a via de retorno e apertar a tecla "START". Em posse do resultado do hemograma, apertar "ALTER" e, através da tecla "↑", localizar no "display" a inscrição "spillover". Apertar "ENTER" e colocar os resultados do hematócrito, além de acertar a concentração de anticoagulante para 1:12, a qual deverá ser alterada progressivamente até 1:16 durante o procedimento; A velocidade de retirada deverá ser de 50 ml/minuto, podendo ser alterada, dependendo das condições venosas do paciente; Atingido o volume a ser processado, apertar "ENTER", fechar o "clamp" azul e abrir o vermelho (salina); Apertar "ENTER" e "START", seqüencialmente, para iniciar a reinfusão; A reinfusão preestabelecida é de 6 minutos e/ou 180 ml de solução fisiológica, no fim da qual, é dada a opção para continuá-la em passos de 30 ml e/ou 1 minuto, ou encerrar o procedimento. Retirar a via de reinfusão e apertar a tecla "STOP".

Características dos pacientes

N ^{pac}	Dt QT mob	Idade	Sexo	Peso	Diagnóstico	Estadio	LDH	QT prévia	RT prévia	Inf. MO
1	28/Jan/98	45	F	59	LNH	IA	207	2	S	N
2	01/Mar/98	21	F	64	LNH	Bulky med	ND	1	N	N
3	16/Abr/98	24	M	45	LNH	IVB/med	195	2	N	N
4	23/Abr/98	44	M	79	LNH	IVB	176	2	N	N
5	07/Mai/98	33	F	41	LNH	IVB	777	1	S	N
6	21/Mai/98	39	M	69	DH	IB	128	2	N	N
7	04/Jun/98	43	M	45	LNH	IVB	1200	1	N	N
8	98/06/15	35	F	61	DH	IIA	328	2	N	N
9	01 a 03/Jul/98	48	F	60	LMC		146	Hy/IFN	N	Ph1+
10	30/Jul/98	26	F	70	DH	IA	321	2	N	N
11	07/Ago/98	27	M	52	LNH	IVB	ND	2	N	N
12	20/Ago/98	48	F	48	DH	IIIB	363	1	S	N
13	02/Set/98	31	F	60	DH	IVB	ND	4	S	N
14	10/Set/98	20	M	46	DH	IIIA	ND	2	N	N
15	15/Out/98	18	M	62	LNH	IIIA	ND	1	N	N
16	19/Out/98	28	M	53	DH	IVB	370	1	N	N
17	29/Out/98	19	M	70	LNH	IVA	ND	1	N	N
18	17/Nov/98	39	M	70	MM	IIIA	280	2	S	
19	20/Nov/98	23	M	53	LNH	IVS	329	1	N	N
20	08/Dez/98	28	F	50	DH	IIA	240	1	S	N
21	08 a 10/Dez/98	22	M	100	LMC		675	Hy/IFN	N	Ph1+
22	12/Fev/99	42	M	55	DH	IVB	392	2	N	N
23	12/Fev/99	57	F	66	LNH	IIA	522	1	S	N
24	25/Fev/99	22	F	60	DH	IIA	272	1	S	N
25	26/Fev/99	39	M	58	LNH	IVA	346	1	N	N
26	03/Mar/99	53	F	50	LNH	IIIB	483	2	S	N
27	04/Mar/99	15	M	64	DH	IVB	ND	1	N	N
28	10/Mar/99	35	F	51	LNH	IVB	608	4	S	N
29	11 a 13/Mar/99	59	M	51	LNH	IIB	844	2	S	N
30	02/Abr/99	18	M	90	DH	IIB/med	305	2	S	N
31	21/Abr/99	12	F	49	DH	IVB	325	4	N	S
32	04/Mai/99	43	F	75	MM	IIIA	394	1	N	N
33	12/Mai/99	31	M	61	LNH	IIIB	242	1	N	N
34	20/Mai/99	28	M	51,5	DH	IIA	619	2	S	N
35	03/Jun/99	38	M	60	LNH	IVB	416	2	N	S
36	05/Jun/99	23	M	60	DH	IVA	332	3	N	S
37	16/Jul/99	48	M	85	LNH	IIIB	293	2	S	N
38	29/Jul/99	56	M	62	MM	IIIA	231	1	N	
39	30/Jul/99	55	M	85	LNH	IVA	ND	2	N	S
40	05/Ago/99	48	M	54	LNH	IVB	298	1	N	S
41	12/Ago/99	48	M	85	LNH	IVA	284	1	N	S

DH: Doença de Hodgkin; LNH: Linfoma não-Hodgkin; Estadio AA: Ann Arbor; LD: Desidrogenase Láctica pré mobilização; HY/IFN: Hidroxiureia + Interferon; med: mediastino; ND: não disponível.

Regime de mobilização

<i>N pac</i>	<i>QT Mobilização</i>	<i>Fator de Crescimento</i>
1	CY 7g/m ²	G
2	CY 7g/m ²	G
3	CY 7g/m ²	GM
4	CY 7g/m ²	G
5	CY 7g/m ²	GM
6	CY 7g/m ²	GM
7	CY 7g/m ²	GM
8	CY 7g/m ²	GM
9	"Mini-Ice"	G(D+8)
10	CY 7g/m ²	GM
11	CY 7g/m ²	GM
12	CY 4g/m ²	GM
13	CY 4g/m ²	GM
14	CY 4g/m ²	GM
15	CY 7g/m ²	GM
16	CY 7g/m ²	GM
17	CY 4g/m ²	GM
18	CY 7g/m ²	G
19	CY 7g/m ²	GM
20	CY 7g/m ²	G
21	"Mini-Ice"	G(D+8)
22	CY 4g/m ²	G
23	CY 7g/m ²	G
24	CY 7g/m ²	GM
25	CY 4g/m ²	G
26	CY 7g/m ²	G
27	CY 7g/m ²	G
28	VP2g/m ²	G
29	"DHAP"	GM
30	CY 7g/m ²	G
31	CY 7g/m ²	G
32	CY 7g/m ²	G
33	CY 4g/m ²	G
34	CY 4g/m ²	G
35	CY 4g/m ²	G
36	CY 4g/m ²	G
37	CY 4g/m ²	G
38	CY 4g/m ²	G
39	CY 4g/m ²	G
40	CY 7g/m ²	G
41	CY 7g/m ²	G

CY: Ciclofosfamida; "Mini-Ice" e "DHAP": vide texto; G: rh G-CSF; GM: rh GM-CSF; G(D+8): Início do fator de crescimento no oitavo dia pós quimioterapia de mobilização.

Características técnicas e eficiência de coleta dos procedimentos de Leucaféreses

<i>N pac</i>	<i>N proc</i>	<i>Equipamento</i>	<i>Tempo (min)</i>	<i>Vol proc (ml)</i>	<i>Ef CN (%)</i>	<i>Ef CMN (%)</i>	<i>Ef Gran (%)</i>	<i>Ef CD34⁺ (%)</i>
1	1	Dideco	270	9285	ND	ND	ND	ND
1	2	Dideco	240	6500	ND	ND	ND	ND
2	3	Dideco	180	11142	29,0	47,3	25,0	326,8
2	4	Dideco	165	7428	10,4	31,9	7,3	168,0
3	5	AS 104	365	9192	28,5	57,7	9,4	63,4
3	6	AS 104	230	9192	13,8	29,7	9,6	32,6
4	7	Dideco	210	9285	6,3	15,6	5,6	47,8
4	8	Dideco	150	9285	16,4	80,6	13,1	139,6
4	9	Dideco	150	11142	6,8	61,9	4,5	ND
5	10	AS 104	251	9217	10,8	49,4	6,2	32,4
5	11	AS 104	236	9192	10,6	53,8	7,9	36,5
5	12	AS 104	275	9192	10,4	50,6	7,9	82,9
5	13	AS 104	239	9192	7,7	38,6	5,6	202,3
6	14	AS 104	245	9216	24,6	25,1	21,8	17,1
6	15	AS 104	180	5571	7,1	8,6	1,8	2,4
6	16	BAXTER	190	9285	37,8	59,5	12,8	67,6
7	17	AS 104	236	9192	29,2	63,7	13,6	43,0
7	18	AS 104	237	9221	24,6	53,6	13,2	46,8
7	19	AS 104	233	9227	27,7	61,0	16,1	88,4
7	20	AS 104	242	9227	17,1	59,3	8,2	57,0
8	21	AS 104	237	9220	22,6	47,1	9,6	120,5
8	22	AS 104	237	9220	16,4	48,2	5,4	104,0
8	23	AS 104	239	9221	15,8	55,6	4,5	122,3
8	24	AS 104	238	9228	25,4	40,7	10,1	37,5
8	25	AS 104	239	9228	10,9	42,1	6,7	88,5
8	26	AS 104	184	4457	4,1	25,2	1,7	124,9
9	27	Dideco	195	11142	79,0	94,6	54,6	225,8
9	28	Dideco	170	9285	ND	ND	ND	ND
9	29	Dideco	150	9285	ND	ND	ND	ND
9	30	Dideco	120	6128	ND	ND	ND	ND
10	31	AS 104	231	9219	12,2	24,2	7,8	34,6
10	32	AS 104	230	9218	7,9	41,9	3,6	129,0
11	33	AS 104	248	9218	8,3	17,0	5,7	21,5
11	34	AS 104	236	9219	4,0	13,9	2,4	13,7
12	35	BAXTER	245	8078	1,0	2,4	0,7	18,2
13	36	AS 104	345	9217	11,5	26,0	8,4	44,9
13	37	AS 104	286	11142	5,2	15,6	4,4	35,3
13	38	AS 104	306	11142	2,7	19,6	2,0	37,2
14	39	AS 104	238	9218	53,4	66,0	42,2	62,3
14	40	AS 104	239	9218	28,5	54,6	18,1	44,4
14	41	AS 104	242	9217	14,3	37,9	9,4	46,5
15	42	AS 104	235	9217	31,6	66,8	21,6	100,2
15	43	AS 104	244	9217	17,8	55,8	9,4	58,6
16	44	AS 104	221	9217	41,5	62,8	9,2	26,5
16	45	AS 104	202	9217	5,5	11,0	3,0	22,8
16	46	AS 104	209	9217	16,5	26,8	13,2	77,3
16	47	AS 104	212	9217	9,2	37,8	5,9	50,6
17	48	AS 104	238	9217	35,7	42,7	31,4	85,1
17	49	AS 104	235	9216	11,5	23,2	8,3	36,7
17	50	AS 104	235	9216	9,3	24,8	5,3	36,9
18	51	AS 104	237	9220	29,3	47,0	20,4	103,4

Continuação anexo VII

N pac	N proc	Equipamento	Tempo (min)	Vol proc (ml)	Ef CN (%)	Ef CMN (%)	Ef Gran (%)	Ef CD34 ⁺ (%)
18	52	AS 104	247	8760	19,9	52,5	11,0	77,8
19	53	BAXTER	185	9285	21,2	39,5	4,6	51,0
19	54	BAXTER	180	9285	11,3	29,3	2,6	87,0
19	55	BAXTER	115	5571	10,3	27,8	1,4	35,5
20	56	AS 104	295	13928	ND	ND	ND	33,4
20	57	AS 104	200	9230	ND	ND	ND	27,2
21	58	AS 104	220	9230	ND	ND	ND	94,7
21	59	AS 104	300	12953	ND	ND	ND	71,6
21	60	AS 104	220	9234	ND	ND	ND	67,2
22	61	AS 104	310	11166	50,0	67,3	26,0	99,8
22	62	AS 104	285	11167	31,7	64,5	16,2	93,3
22	63	AS 104	305	11185	10,3	50,5	5,7	68,5
23	64	BAXTER	220	9308	15,4	32,8	12,3	44,0
23	65	BAXTER	260	10678	17,9	34,7	15,1	45,9
23	66	BAXTER	270	11167	3,3	22,8	1,0	43,8
23	67	BAXTER	295	10270	6,4	30,7	4,4	43,1
24	68	AS 104	244	9218	10,7	19,2	9,2	60,2
24	69	AS 104	287	11142	10,5	45,6	6,6	52,9
24	70	AS 104	290	11142	9,6	17,3	7,2	68,9
25	71	BAXTER	210	9285	31,5	49,7	24,1	43,6
25	72	BAXTER	220	11142	12,3	38,8	6,6	68,0
25	73	BAXTER	220	11142	9,1	26,2	4,9	72,9
25	74	BAXTER	220	11142	10,3	41,3	4,9	102,9
26	75	AS 104	237	9217	20,9	64,4	5,9	71,8
26	76	AS 104	236	9217	13,1	54,8	4,1	76,5
26	77	AS 104	235	9192	9,0	37,7	5,9	63,7
27	78	BAXTER	270	9285	37,3	64,0	20,5	56,7
27	79	BAXTER	160	9285	27,8	64,3	14,0	103,4
28	80	AS 104	286	11142	16,6	39,4	11,0	56,3
28	81	AS 104	281	11142	9,6	41,2	4,0	36,1
28	82	AS 104	284	11167	13,3	57,7	4,5	44,0
29	83	BAXTER	230	11142	43,2	50,9	35,5	73,7
30	84	BAXTER	210	9285	24,5	49,5	8,3	70,7
30	85	BAXTER	220	11142	24,3	61,4	9,6	77,3
30	86	BAXTER	220	11142	11,6	49,4	6,3	91,6
31	87	BAXTER	195	9285	40,7	45,5	25,7	27,9
31	88	BAXTER	180	9285	41,6	61,0	15,3	29,1
31	89	BAXTER	180	9285	28,6	59,3	8,3	55,6
31	90	BAXTER	175	9285	10,1	47,0	2,5	66,5
31	91	BAXTER	175	9285	7,6	36,8	2,6	50,0
32	92	BAXTER	235	11142	4,7	12,7	3,8	36,5
32	93	BAXTER	230	11142	2,8	14,0	1,7	53,9
32	94	BAXTER	220	11142	6,3	26,4	4,3	88,9
33	95	BAXTER	200	11142	22,6	23,4	22,4	48,3
34	96	BAXTER	240	11142	30,4	28,9	31,8	56,3
34	97	BAXTER	215	11142	16,1	32,8	12,7	70,4
34	98	BAXTER	100	5571	8,3	34,8	4,6	101,0
35	99	BAXTER	190	9285	32,9	31,7	34,7	16,9
35	100	BAXTER	210	11142	39,1	39,0	39,4	80,8
35	101	BAXTER	180	11142	46,2	45,2	47,2	92,3
35	102	BAXTER	200	11142	32,3	29,9	33,3	39,9
36	103	BAXTER	240	9285	ND	ND	ND	ND
36	104	BAXTER	200	9285	10,3	42,0	3,8	ND
37	105	AS 104	220	9192	8,7	12,4	7,5	ND
37	106	AS 104	220	9192	14,1	59,7	10,6	80,8
38	107	AS 104	223	9217	14,1	ND	ND	ND

Continuação anexo VII

<i>N pac</i>	<i>N proc</i>	<i>Equipamento</i>	<i>Tempo (min)</i>	<i>Vol proc (ml)</i>	<i>Ef CN (%)</i>	<i>Ef CMN (%)</i>	<i>Ef Gran (%)</i>	<i>Ef CD34⁺ (%)</i>
38	108	AS 104	210	9217	5,3	36,9	1,6	45,8
39	109	AS 104	260	11142	ND	ND	ND	ND
39	110	AS 104	255	11142	ND	ND	ND	ND
39	111	AS 104	230	10585	ND	ND	ND	ND
40	112	AS 104	251	11167	17,6	68,1	7,0	89,0
40	113	AS 104	284	11167	16,4	73,0	6,7	89,4
41	114	BAXTER	210	11142	8,2	41,2	3,7	60,0
41	115	BAXTER	210	9285	8,7	53,6	4,1	83,1

Ef: eficiência; CN: células nucleadas; CMN: células mononucleadas; Gran: granulócitos; ND: não disponível.

Parâmetros hematológicos pré e pós procedimentos de leucaférese

N pac	N proc	Hb pré	CN pré	CMN pré	Gran pré	CD34 ⁺ pré	Plaq pré	Hb pós	CN pós	CMN pós	Gran pós	CD34 ⁺ pós	Plaq pós
1	1	ND	5,7	ND	ND	ND	144	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	2	ND	17,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	3	9	3,3	0,8	2,5	39,3	109	9,2	6,3	0,9	5,4	50,9	120
2	4	9,2	12,3	1,5	10,8	42,8	117	8,4	10,4	1,4	9	40,5	94
3	5	9,9	2,5	1	1,5	34,4	68	8,3	1,8	0,7	1,1	15,8	47
3	6	10,2	5,7	1,1	4,6	71,0	60	10,3	5,9	1,3	4,6	33,6	46
4	7	8,3	7,8	0,6	7,2	34,0	138	8,2	11,9	0,8	11,1	20,8	105
4	8	7,4	5,4	0,4	5	17,4	110	8	9	0,3	8,7	12,7	101
4	9	7,4	9,6	0,3	9,3	ND	90	7,3	12,7	0,6	12,1	34,5	69
5	10	8,6	1,7	0,2	1,5	8,0	16	8,8	2,1	0,2	1,9	2,7	19
5	11	10,2	2,5	0,1	2,4	13,6	24	9,5	2,6	0,2	2,4	9,1	20
5	12	10,5	6,2	0,4	5,8	12,3	44	10,1	7,5	0,4	7,1	4,6	29
5	13	8,6	5,8	0,5	5,3	3,6	56	8,3	7,9	0,4	7,5	9,1	46
6	14	9,5	4,1	3,5	0,6	84,9	192	9,5	4,3	3,6	0,7	83,0	175
6	15	10	7,1	5,7	1,4	279,0	233	8,2	6,8	5,1	1,7	51,5	197
6	16	9,4	13,3	7,8	5,5	90,9	235	8,7	11,9	5,7	6,2	87,0	166
7	17	8,5	1,2	0,4	0,8	5,9	9	7,9	1,7	0,5	1,2	2,3	12
7	18	7,8	1,4	0,5	0,9	10,6	11	6,8	1,8	0,4	1,4	6,7	7
7	19	7,1	1,4	0,4	1	5,2	4	6,1	1,7	0,4	1,3	2,3	5
7	20	8,2	2,1	0,4	1,7	9,8	22	7,1	2,5	0,4	2,1	4,4	67
8	21	9,2	1,3	0,4	0,9	9,4	62	8,4	1,3	0,5	0,8	5,2	42
8	22	8,2	2,1	0,5	1,6	5,3	33	7,8	1,8	0,5	1,3	1,7	21
8	23	ND	2,7	0,5	2,2	4,3	22	ND	1,8	0,5	1,3	1,0	21
8	24	ND	ND	1,1	ND	9,0	ND	9,6	4,3	0,7	3,6	9,7	11
8	25	10,8	3,3	0,6	2,7	7,9	32	9,7	5,1	0,4	4,7	4,2	19
8	26	10,9	9,4	1	8,4	4,8	71	9,2	6,4	0,6	5,8	14,7	46
9	27	8,4	1	0,6	0,4	5,6	35	7,1	0,8	0,5	0,3	4,7	31
9	28	8,4	1,5	0,6	0,9	ND	21	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	29	10,5	2,4	0,7	1,7	ND	13	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	30	9,9	3,8	1,1	2,7	ND	32	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	31	9,5	2,3	0,7	1,6	81,5	226	9,9	3,3	0,8	2,5	69,1	198
10	32	10,1	9	0,9	8,1	44,4	221	9,3	9,9	1,2	8,7	12,7	197
11	33	9,6	2,8	0,7	2,1	135,4	227	6,8	4,4	1	3,4	195,6	259
11	34	9,1	8,6	1,3	7,3	271,5	199	8,5	9,1	1,2	7,9	177,3	179
12	35	10,2	3,3	0,8	2,5	9,0	104	9,9	3,3	0,4	2,9	6,0	59
13	36	10,2	3,4	0,6	2,8	6,4	136	8,8	4,5	0,8	3,7	10,4	120
13	37	10,3	10	0,9	9,1	10,7	166	8,6	9,7	0,6	9,1	6,7	95
13	38	9,9	15,8	0,5	15,3	8,6	140	9,8	12,8	0,6	12,2	5,6	101
14	39	10,4	1	0,5	0,5	8,2	11	7,3	0,7	0,3	0,4	7,5	11
14	40	8,6	1,6	0,5	1,1	24,5	11	6,9	1,2	0,3	0,9	17,3	7
14	41	10,5	3,4	0,7	2,7	38,4	23	9,4	3	0,4	2,6	34,8	25
15	42	9,7	1,2	0,3	0,9	33,3	58	8,2	1,5	0,3	1,2	28,3	76
15	43	10,1	4,2	0,7	3,5	61,9	108	8,5	2,4	0,5	1,9	26,2	93
16	44	10,9	1,07	0,692	0,378	04,3	122	9,7	1,36	0,774	0,586	2,2	100
16	45	10,3	3,98	1,33	2,65	5,2	114	10,1	4,98	1,408	3,572	4,4	96
16	46	11,2	10,6	2,93	7,67	11,8	151	9,7	7,39	1,451	5,939	11,1	121
16	47	11	14,2	1,4	12,8	16,7	201	10,1	10,1	1,1	9	11,5	126
17	48	10,4	2,9	1,2	1,7	14,2	161	10,1	2,6	0,9	1,7	13,1	136
17	49	11,1	9,3	2,1	7,2	50,4	167	9	8	1,6	6,4	33,7	138
17	50	10,6	15,7	3,7	12	32,0	167	10,6	13,5	2,3	11,2	17,8	167

Continuação anexa VIII

N pac	N proc	Hb pré	CN pré	CMN pré	Gran pré	CD34 ⁺ pré	Plaq pré	Hb pós	CN pós	CMN pós	Gran pós	CD34 ⁺ pós	Plaq pós
18	51	7,7	1,7	0,5	1,2	16,1	46	6,9	1,9	0,7	1,2	17,1	39
18	52	8,7	4	1	3	41,2	40	7,8	3,5	0,6	2,9	26,4	48
19	53	10,9	1,1	0,5	0,6	17,1	66	9,2	1	0,5	0,5	13,8	47
19	54	10,7	2,3	0,8	1,5	22,4	88	8,7	3,5	1,1	2,4	18,8	97
19	55	10,9	4,2	1,2	3	63,6	124	9,1	3,8	1,5	2,3	56,6	113
20	56	11	15,4	1	14,4	88,5	210	ND	ND	ND	ND	52,4	ND
20	57	11	25,2	0,7	24,5	70,2	128	ND	ND	ND	ND	33,5	ND
21	58	9,1	0,9	0,5	0,4	8,9	18	ND	ND	ND	ND	13,3	ND
21	59	10,1	2,4	0,7	1,7	32,4	31	ND	ND	ND	ND	27,1	ND
21	60	9,8	2	1	1	35,1	52	ND	ND	ND	ND	43,5	ND
22	61	7,9	1,6	1	0,6	9,8	149	7,7	1,5	0,8	0,7	5,6	101
22	62	10,7	2,7	0,9	1,8	13,0	102	10,4	2,9	0,9	2	6,0	91
22	63	12,4	15,1	1,6	13,5	19,2	182	11,1	14	1,4	12,6	17,1	143
23	64	8,9	1,5	0,2	1,3	6,3	29	7,7	1,8	0,3	1,5	8,2	34
23	65	8,9	2,8	0,4	2,4	18,0	34	7,9	2,1	0,3	1,8	9,5	23
23	66	9,4	6	0,9	5,1	28,3	32	9,5	8	0,6	7,4	23,0	26
23	67	10,6	10,6	0,9	9,7	28,4	40	10,5	14,2	0,9	13,3	18,1	20
24	68	7,2	1,4	0,2	1,2	6,5	10	7	2	0,3	1,7	6,9	17
24	69	11,3	5,4	0,4	5	22,3	20	9,5	5,6	0,7	4,9	18,0	16
24	70	10,4	8,7	0,9	7,8	34,1	15	9,5	15,2	4,6	10,6	24,7	14
25	71	10,9	1,3	0,3	1	7,1	20	9,4	1,8	0,6	1,2	8,1	28
25	72	10	4	0,6	3,4	13,9	29	9,2	3,9	0,8	3,1	10,6	25
25	73	7,8	3,4	0,7	2,7	10,4	25	7,8	4,8	0,9	3,9	8,3	20
25	74	8,1	7	1,3	5,7	11,6	34	9,5	9,9	1,2	8,7	13,3	38
26	75	10,4	1,8	0,5	1,3	11,5	14	9,9	2,1	0,5	1,6	10,4	10
26	76	10,2	3,8	0,9	2,9	25,0	20	9,4	4,7	0,6	4,1	23,1	14
26	77	8,9	6,5	0,5	6	33,8	23	5,1	3,8	0,5	3,3	11,1	19
27	78	8,6	1,3	0,4	0,9	16,5	57	7,4	1,3	0,6	0,7	18,5	45
27	79	6,7	3	0,9	2,1	30,7	109	6,9	3,2	0,8	2,4	27,0	95
28	80	8,6	4,7	0,9	3,8	4,8	16	8,8	6	1,2	4,8	4,8	12
28	81	8,2	5,7	0,9	4,8	2,4	5	6,8	6,3	0,9	5,4	1,4	5
28	82	8,4	6,7	1	5,7	3,2	10	7,5	7,8	1,4	6,4	2,4	8
29	83	9,4	1,9	1	0,9	78,1	15	7,9	1,7	0,8	0,9	68,0	9
30	84	9,5	1,8	0,7	1,1	3,6	41	8,8	2	0,8	1,2	3,8	28
30	85	10,9	3	0,9	2,1	6,1	29	7,3	3	0,8	2,2	5,6	27
30	86	8,5	12,3	1,9	10,4	37,5	43	7,8	14,5	1,4	13,1	29,2	32
31	87	9,4	1,6	1,3	0,3	2,1	26	7,4	1,3	0,9	0,4	1,3	12
31	88	7,9	2,4	1,4	1	1,6	15	6,8	2,3	1,3	1	1,3	7
31	89	8,9	4,5	1,8	2,7	5,8	35	6,9	3,8	1,5	2,3	7,5	27
31	90	8,8	9,8	2	7,8	16,7	37	8,7	11,2	1,6	9,6	14,9	36
31	91	9,5	18,6	3,1	15,5	33,8	30	8	17,4	2,2	15,2	17,9	22
32	92	8,6	3,1	0,3	2,8	19,6	63	5,8	2,1	0,2	1,9	10,3	31
32	93	9	5,1	0,6	4,5	27,1	40	6,5	4,9	0,3	4,6	10,6	54
32	94	8	7,2	0,7	6,5	45,9	52	7,3	3,9	0,3	3,6	19,7	32
33	95	10,3	9	1,4	7,6	328,8	47	8,4	6,9	1,2	5,7	199,5	36
34	96	10,2	3,6	1,8	1,8	20,0	57	7,8	2,5	1,1	1,4	11,2	47
34	97	12,1	8,1	1,4	6,7	16,5	48	9,1	9,1	1,5	7,6	16,7	42
34	98	10,5	23,7	3	20,7	13,7	59	9,3	24,4	2,8	21,6	14,7	86
35	99	9,7	1,7	1,3	0,4	2,0	16	8,1	1,6	0,7	0,9	0,3	40
35	100	9	3,9	2,4	1,5	0,1	32	7,4	3,2	1,6	1,6	0,3	9
35	101	9,8	2,2	1,9	0,3	0,3	6	9,2	4,7	1,5	3,2	0,4	11
35	102	8,8	4,9	1,8	3,1	2,0	67	7,2	5	1,3	3,7	0,7	33
36	103	8,8	3,9	1	2,9	108,4	84	ND	ND	ND	ND	ND	ND
36	104	9,1	6,1	1,3	4,8	146,5	105	7,2	6,3	0,8	5,5	101,0	85

Continuação anexo VIII

N pac	N proc	Hb pré	CN pré	CMN pré	Gran pré	CD34 ⁺ pré	Plaq pré	Hb pós	CN pós	CMN pós	Gran pós	CD34 ⁺ pós	Plaq pós
37	105	8,7	4,4	0,4	4	39,9	46	8,39	6,94	2,29	4,65	44,6	19,1
37	106	9,25	8,83	0,859	8,171	51,3	51,8	8,85	7,31	0,502	6,808	35,7	40,2
38	107	ND	4,77	ND	ND	ND	129	11,4	9,8	1,7	8,1	55,7	108
38	108	10,6	21,1	2,4	18,7	43,4	129	10,2	16,6	1,6	15	30,1	91
39	109	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
39	110	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
39	111	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
40	112	8,9	3,7	0,7	3	17,5	62	7,7	3,2	0,5	2,7	12,7	49
40	113	9	5,6	0,8	4,8	21,2	51	7,5	5,3	0,8	4,5	18,2	49
41	114	12,2	5,6	0,8	4,8	71,9	20	9,6	4,5	0,4	4,1	81,0	15
41	115	11,4	6,5	0,7	5,8	113,2	16	10,6	10,6	0,9	9,7	89,6	20

Hb: hemoglobina em g/dL; CN, CMN e Gran: células nucleadas, células mononucleadas e granulócitos ($\times 10^9/L$), respectivamente; CD34⁺ por μL ; plaq: plaquetas ($\times 10^9/L$)

Características dos produtos coletados por leucaféreses

N pac	N proc	Vol prod (ml)	Hb prod (g/dL)	CN (x10 ⁸ /Kg)	CMN (x 10 ⁶ /Kg)	Gran (x 10 ⁸ /Kg)	Céls CD34 ⁺ (x10 ⁸ /Kg)	Plaq tot (x10 ¹¹)
1	1	680	0,8	3,39	0,5	2,89	17,03	14,3
1	2	422	0,63	3,02	0,39	2,63	12,33	3,7
2	3	520	0,96	2,44	0,71	1,73	25,66	2,3
2	4	500	0,72	1,38	0,54	0,84	8,12	1,6
3	5	339	1,9	1,41	1	0,41	3,25	0,8
3	6	338	1,7	1,84	0,73	1,11	3,48	0,7
4	7	350	1,3	0,73	0,13	0,6	1,54	2,5
4	8	400	1,63	1,39	0,33	1,06	2,47	3,7
4	9	544	0,84	1,07	0,39	0,68	2,74	3,4
5	10	337	2	0,46	0,22	0,24	0,39	0,3
5	11	337	2	0,61	0,18	0,43	0,93	0,3
5	12	338	1,9	1,6	0,45	1,15	1,57	0,6
5	13	340	2,2	1,19	0,39	0,8	2,88	0,7
6	14	335	0,6	1,38	1,19	0,19	1,92	1,4
6	15	198	0,2	0,4	0,37	0,03	0,32	0,5
6	16	60	6	6,42	5,41	1,01	8,09	3,1
7	17	338	1,3	0,86	0,59	0,27	0,36	0,1
7	18	342	1,6	0,81	0,49	0,32	0,83	0,1
7	19	341	1,4	0,88	0,5	0,38	0,68	0,1
7	20	342	1,7	0,81	0,49	0,32	0,83	0,2
8	21	343	1,7	0,44	0,32	0,12	1,33	0,6
8	22	342	1,6	0,48	0,36	0,12	0,55	0,4
8	23	342	1,4	0,54	0,42	0,12	0,49	0,3
8	24	341	1,4	0,83	0,56	0,27	0,53	0,2
8	25	341	1,4	0,69	0,32	0,37	0,81	0,4
8	26	173	1,3	0,24	0,15	0,09	0,89	0,3
9	27	835	0,8	1,43	1,07	0,36	2,16	2,6
9	28	690	0,9	1,21	0,72	0,49	1,06	0,8
9	29	584	1,1	1,56	0,72	0,84	0,9	0,4
9	30	333	1,6	1,61	0,76	0,85	0,99	0,5
10	31	342	0,5	0,45	0,24	0,21	3,43	2,2
10	32	341	0,9	0,98	0,58	0,4	4,85	2,5
11	33	342	1,1	0,53	0,26	0,27	6,3	2,0
11	34	341	1,2	0,63	0,31	0,32	5,45	1,8
12	35	50	0,4	0,33	0,16	0,17	0,23	0,2
13	36	343	1,6	0,71	0,28	0,43	0,58	1,2
13	37	343	1,2	1,14	0,26	0,88	0,57	2,3
13	38	343	1	0,92	0,42	0,5	0,49	0,8
14	39	343	1,3	0,91	0,53	0,38	0,98	0,1
14	40	341	1,1	0,8	0,44	0,36	1,86	0,1
14	41	343	1,4	0,92	0,42	0,5	3,41	0,3
15	42	342	1,4	0,63	0,3	0,33	4,59	1,5
15	43	343	1,3	0,87	0,5	0,37	3,84	1,8
16	44	342	1,7	0,79	0,72	0,07	0,15	1,4
16	45	342	1,8	0,38	0,23	0,15	0,19	1,1
16	46	344	1,6	2,31	0,91	1,4	1,54	1,6
16	47	343	1,4	1,74	0,74	1	1,24	2,0
17	48	344	0,9	1,29	0,59	0,7	1,53	2,0
17	49	344	0,5	1,31	0,56	0,75	2,03	1,8
17	50	344	0,6	1,78	0,98	0,8	1,21	1,9

Continuação anexo IX

N pac	N proc	Vol prod (ml)	Hb prod (g/dL)	CN (x10 ⁹ /Kg)	CMN (x 10 ⁵ /Kg)	Gran (x 10 ³ /Kg)	Céls CD34 ⁺ (x10 ⁵ /Kg)	Plaq tot (x10 ¹¹)
18	51	342	1,9	0,69	0,42	0,27	2,26	0,7
18	52	320	1,4	0,93	0,53	0,4	3,29	0,6
19	53	390	0,6	0,39	0,35	0,04	1,38	0,9
19	54	290	0,6	0,58	0,49	0,09	3,14	0,9
19	55	290	0,4	0,43	0,39	0,04	2,24	1,1
20	56	489	0,9	1,68	0,57	1,11	6,56	3,1
20	57	209	0,8	1,14	0,24	0,9	2,6	1,0
21	58	340	1,6	0,46	0,31	0,15	0,97	0,3
21	59	442	1,2	0,98	0,6	0,38	2,76	0,6
21	60	341	1,4	0,84	0,54	0,3	2,44	0,8
22	61	410	1,9	1,57	1,23	0,34	1,56	2,3
22	62	410	2	1,8	1,18	0,62	1,8	2,1
22	63	409	1,3	3,06	1,54	1,52	2,53	2,6
23	64	60	4,2	0,36	0,12	0,24	0,45	0,5
23	65	60	3,7	0,71	0,2	0,51	1,02	0,5
23	66	60	4,8	0,39	0,29	0,1	1,9	0,6
23	67	60	3,8	1,23	0,47	0,76	1,56	0,6
24	68	341	1,8	0,28	0,07	0,21	0,62	0,1
24	69	411	1,8	1,08	0,47	0,61	1,98	0,3
24	70	410	1,6	2,12	0,88	1,24	3,76	0,3
25	71	60	3,6	0,78	0,36	0,42	0,53	0,3
25	72	60	4,4	0,94	0,53	0,41	1,6	0,6
25	73	60	3,4	0,72	0,4	0,32	1,31	0,6
25	74	60	4,2	1,67	0,99	0,68	2,46	0,9
26	75	341	1,7	0,75	0,59	0,16	1,45	0,2
26	76	341	1,2	1,02	0,69	0,33	3,39	0,3
26	77	340	1,6	0,85	0,35	0,5	2,63	0,4
27	78	113	1,3	0,7	0,46	0,24	1,44	0,9
27	79	60	5,3	1,25	0,79	0,46	4,33	2,0
28	80	401	1,5	2,03	0,95	1,08	0,59	0,3
28	81	401	1,6	1,29	0,83	0,46	0,15	0,1
28	82	411	1,6	2,15	1,55	0,6	0,27	0,2
29	83	60	5,5	1,7	1	0,7	11,76	0,3
30	84	58	4,1	0,48	0,38	0,1	0,27	0,7
30	85	58	4,6	0,9	0,65	0,25	0,56	0,6
30	86	60	8,1	1,92	1,01	0,91	3,78	0,8
31	87	58	5,4	1,12	0,95	0,17	0,09	0,2
31	88	59	6,3	1,85	1,56	0,29	0,08	0,2
31	89	58	5	2,25	1,86	0,39	0,7	0,5
31	90	59	5,4	2,02	1,6	0,42	1,99	0,7
31	91	59	5,3	2,6	1,53	1,07	2,45	4,7
32	92	58	5,8	0,18	0,05	0,13	0,81	0,7
32	93	59	8,5	0,21	0,09	0,12	1,51	0,6
32	94	59	5,1	0,52	0,2	0,32	4,33	0,6
33	95	60	10,6	3,28	0,55	2,73	23,3	0,6
34	96	58	10,3	2,01	0,91	1,1	1,9	0,7
34	97	59	9,1	2,99	1,09	1,9	2,53	0,8
34	98	58	4,5	2,15	1,09	1,06	1,55	0,4
35	99	60	5,3	0,84	0,49	0,35	0,03	1,0
35	100	60	6,8	2,58	1,45	1,13	0,03	0,4
35	101	60	6,4	2,96	1,43	1,53	0,06	0,4
35	102	60	6,7	2,97	0,86	2,11	0,1	1,3
36	103	60	8,7	0,81	0,59	0,22	4,13	1,3
36	104	55	4,5	0,99	0,68	0,31	5,74	1,1

Continuação anexo IX

N pac	N proc	Vol prod (ml)	Hb prod (g/dL)	CN (x10 ⁸ /Kg)	CMN (x 10 ⁸ /Kg)	Gran (x 10 ⁸ /Kg)	Céls CD34 ⁺ (x10 ⁸ /Kg)	Plaq tot (x10 ¹¹)
37	105	320	1,71	0,53	0,18	0,35	2,39	0,5
37	106	347	1,94	1,23	0,38	0,85	3,8	0,8
38	107	341	ND	1,53	1,32	0,21	4,72	1,9
38	108	340	1,7	1,5	1,1	0,4	2,5	1,8
39	109	380	1,7	1,06	0,89	0,17	1,23	0,8
39	110	320	1,5	1,46	1,04	0,42	2,16	0,6
39	111	350	1	1	0,59	0,41	0,96	0,7
40	112	411	1,8	1,26	0,85	0,41	2,78	1,2
40	113	410	1,9	1,85	1,21	0,64	3,64	1,2
41	114	56	3,8	0,54	0,32	0,22	6,01	0,5
41	115	58	3,3	0,81	0,47	0,34	9,2	0,5

Vol prod: volume do produto; Hb: hemoglobina; CN: células nucleadas;

CMN: células nucleadas; Gran: granulócitos; plaq tot: plaquetas totais.

Dados clínicos e biológicos relacionados ao período da mobilização

Nº pac	Rec leucoc (dias)	Plaq 20x10 ⁹ /L (dias)	Plaq 50x10 ⁹ /L (dias)	CH transf	Plaq transf	Dias intern	CD34 ⁺ total (x10 ⁶ /Kg)	Nº aféreses
1	10	0	7	1	0	0	29,36	2
2	10	0	0	0	0	13	33,78	2
3	13	16	17	1	2	17	6,73	2
4	0	0	0	0	0	22	6,75	3
5	15	12	23	3	2	31	5,77	4
6	11	0	0	2	0	35	10,33	3
7	19	30	30	15	17	34	2,7	4
8	15	21	24	5	4	35	4,6	6
9	19	21	30	ND	ND	35	5,11	4
10	12	0	0	0	0	13	8,28	2
11	12	0	0	1	0	28	11,75	2
12	11	0	0	4	0	16	0,23	1
13	12	0	0	4	0	17	1,64	3
14	13	18	30	4	4	21	6,25	3
15	13	12	13	0	2	16	8,43	2
16	12	0	0	0	0	17	3,12	4
17	0	0	0	0	0	17	4,77	3
18	14	13	16	3	3	24	5,55	2
19	12	8	12	0	2	15	6,76	3
20	9	0	0	0	0	13	9,16	2
21	15	14	17	2	0	19	6,17	3
22	0	0	0	5	0	15	5,89	3
23	17	17	ND	4	2	ND	4,93	4
24	16	19	21	6	3	26	5,9	4
25	11	ND	ND	5	2	15	6,36	3
26	17	15	17	10	6	32	5,77	2
27	14	16	19	2	1	20	7,47	3
28	11	16	30	1	2	21	1,01	3
29	11	10	11	0	0	11	11,76	1
30	14	16	ND	0	2	17	4,61	3
31	15	0	>20	3	0	22	5,31	5
32	15	ND	ND	4	3	18	6,65	3
33	11	0	>12	2	0	13	23,3	1
34	7	0	8	1	0	11	5,98	3
35	10	30	30	5	5	15	0,22	4
36	15	13	16	5	1	17	9,87	2
37	13	13	17	3	2	16	6,19	2
38	9	0	0	0	0	12	7,22	2
39	11	0	13	1	0	16	4,35	3
40	17	16	17	5	3	18	6,42	2
41	11	0	12	0	0	12	15,21	2

Rec leuc: recuperação leucocitária; CH transf: número de concentrado de hemácias transfundidos; Plaq transf: número de episódios de transfusão de plaquetas; Dias intern: dias de internação desde a quimioterapia de mobilização até o último dia da aférese; CD34⁺ total: somatória da quantidade de células CD34⁺ em todas as aféreses.