

Afonso Celso Vigorito

***Estudo Randomizado Comparativo do Transplante
Alogênico de Medula Óssea e Célula Progenitora
Periférica, Mobilizada por G-CSF, não Manipulada,
em Neoplasias Hematológicas***

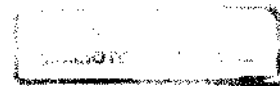
Orientador: ***Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza***

Co-Orientadora: ***Profa. Dra. Irene Lorand-Metze***

*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, 1998

2823093



Afonso Celso Vigorito

***Estudo Randomizado Comparativo do Transplante
Alogênico de Medula Óssea e Célula Progenitora
Periférica, Mobilizada por G-CSF, não Manipulada,
em Neoplasias Hematológicas***

Universidade Estadual de Campinas, 1998

*Ficha Catalográfica Elaborada pela
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
UNICAMP*

Vigorito, Afonso Celso

V688e

Estudo randomizado comparativo do transplante alogênico de medula óssea e célula progenitora periférica, mobilizada por G-CSF, não manipulada, em neoplasias hematológicas / Afonso Celso Vigorito. Campinas, SP : [s.n.], 1998.

Orientador: Cármino Antonio de Souza

Tese de (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

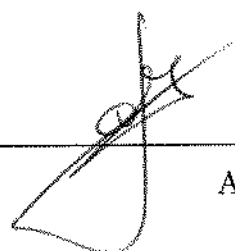
1. Transplante homólogo. 2. Transplante celular. 3. Células primitivas. I. Cármino Antonio de Souza. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Local e data: Campinas, 14 de agosto de 1998.

Banca Examinadora

Titulares:

Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza



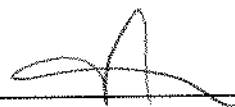
Assinatura

Profa. Dra. Joyce M Annichino Bizzachi



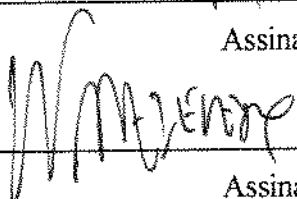
Assinatura

Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa



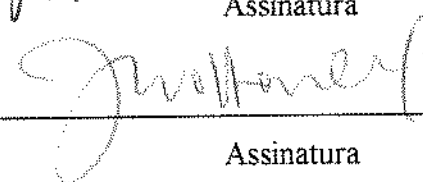
Assinatura

Prof. Dr. Wellington Moraes de Azevedo



Assinatura

Prof. Dr. Júlio César Voltarelli



Assinatura

Suplentes:

Profa. Dra. Maria Leticia Cintra

Assinatura

Prof. Dr. Frederico Dulley

Assinatura

Dedicatória

*À minha mulher **Márcia** e aos meus filhos, **Manoela** e **Bruno**, pela tolerância aos
constantes momentos de ausência.*

Agradecimentos

Ao Professor Cármino Antonio de Souza, orientador e amigo, idealizador do programa de transplante de medula óssea do HC/Unicamp e incentivador da pesquisa clínica, pela ajuda e confiança transmitida no momento da troca do meu projeto inicial de doutorado.

À Professora Irene Lorand-Metze, co-orientadora, pelo auxílio e críticas ao projeto deste trabalho.

À Coordenadoria do Hemocentro - Unicamp, pelos esforços constantes para se manter viável o Programa de Transplante de Medula Óssea.

Ao médico Wellington Moraes de Azevedo, pioneiro dos transplantes alogênicos com células progenitora periférica no Brasil, pelo estímulo à conclusão deste trabalho.

Aos amigos Valder e Aranha, que, cada um à sua maneira, me ajudou a elaborar os problemas enfrentados na execução do doutorado.

Aos médicos do TMO, Kátia Eid, Alexandre M. Azevedo e Gislaine B. Oliveira, responsáveis pelas rotinas fundamentais do Programa de Transplante de Medula Óssea.

Ao médico Marques, supervisor da aférese, responsável por todo o procedimento de colheita das CPP.

Ao médico Vagner, pela realização das avaliações hemoterápicas nos pacientes no Ambulatório de Pré Transplante de Medula Óssea.

À equipe de enfermagem da enfermaria de TMO, pela sua capacidade técnica, pelo carinho aos pacientes e pela tolerância aos problemas do dia a dia.

À Milva, enfermeira responsável pelo ambulatório de pós transplante, pela elaboração e manutenção do seu andamento.

À equipe de enfermagem do ambulatório de Pós TMO.

À Elvira, cirurgiã-dentista pelo acompanhamento das patologias bucais dos pacientes do Serviço de Transplante de Medula Óssea.

À Cida, responsável pela realização da imunofenotipagem e auxílio no centro cirúrgico durante as colheitas.

À Eliana, pela ajuda nas colheitas dos dados clínicos e na elaboração e execução das análises estatísticas.

À Francis, nossa secretária, pela editoração de todo o trabalho.

Ao Eduardo, biólogo da aférese, pela parte técnica do procedimento das colheitas.

Aos médicos residentes da Hematologia.

Ao Laboratório de Histocompatibilidade e Cultura Mista, pela realização dos exames de compatibilidade.

A Lucélia, assistente social, que tem tornado possível o transplante para muitos de nossos pacientes.

À Margareth, terapeuta ocupacional, que torna menos árdua a permanência dos pacientes durante o período de internação.

E a todos aqueles que, de uma maneira ou outra, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Lista de Abreviaturas e Siglas

AR	anemia refratária	HLA:	<i>human leucocytes antigens</i>
AREB	anemia refratária com excesso de blastos	ICAM-1:	molécula de adesão intercelular
BFU-E:	unidade formadora de colônia de eritrócitos	ICT:	irradiação corporal total
BU	bussulfano	IFN-γ:	interferon γ
CB	crise blástica	IL-10:	interleucina 10
CFU-GM:	unidade formadora de colônias de granulócitos e monócitos	IL-2:	interleucina 2
CFU-S:	unidade formadora de colônias esplênicas	IL-3:	interleucina 3
CH:	concentrado de hemácias	IL-4:	interleucina 4
CHM:	complexo de histocompatibilidade maior	IL-7:	interleucina 7
CML:	cultura mista de leucócitos	IL-8:	interleucina 8
CNT:	células nucleadas totais	LAK:	<i>lymphokine activated killer</i>
CPP:	célula progenitora periférica	LH:	linfoma de Hodgkin
CSP:	ciclosporina	LLA:	leucemia linfóide aguda
Cy	ciclofosfamida	LMA:	leucemia mielóide aguda
DECH:	doença do enxerto contra o hospedeiro	LMC:	leucemia mielóide crônica
DLA:	<i>canine leucocytes antigens</i>	LNH:	linfoma não Hodgkin
EBMT:	Grupo Europeu de Transplante de Sangue e Medula	LTC-IC:	células iniciadoras de cultura de longo termo
FA	fase acelerada	M:	mediana
1ª FC	1ª fase crônica	MAC:	moléculas de adesão celular
5-FU:	5-fluorouracil	MM:	mieloma múltiplo
G-CSF:	fator estimulador de colônia de granulócitos	MO:	medula óssea
GM-CSF:	fator estimulador de colônia de granulócitos-macrófagos	MTX	metotrexato
		NAN:	número absoluto de neutrófilos
		NK:	<i>natural killer</i>
		NPP:	nutrição parenteral prolongada
		PAF:	fator ativador de plaquetas
		Pred	prednisona
		1ª RC	1ª remissão completa
		2ª RC	2ª remissão completa
		1ª rec	1ª recidiva

SCF: fator estimulador de célula
progenitora
SMD: síndromes mielodisplásicas
SNC: sistema nervoso central

VCAM-1: ligante do estroma da MO
VNTR: *variable number tandem repeat*
VP-16 etoposide

Sumário

1.	<i>Introdução.....</i>	01
1.1	História.....	02
1.2.	Transplante alogênico com CPP	04
1.3.	Transplantes alogênicos com CPP em animais	08
1.4.	Mecanismos envolvidos na mobilização	10
1.5.	Características fenotípicas, funcionais e biológicas das CPP mobilizadas por fator de crescimento	13
1.6.	Composição celular do produto da aférese	16
1.7.	Colheita de CPP após a administração de fator de crescimento recombinantes em doadores normais	20
1.8.	Dose de CPP para transplante alogênico	23
1.9.	Resultados clínicos dos transplantes com CPP utilizando doadores HLA idênticos	27
1.10.	Doença do enxerto contra hospedeiro	30
2.	<i>Objetivos.....</i>	33
3.	<i>Casuística e métodos</i>	35
3.1	Seleção de pacientes.....	36
3.1.1.	Inclusões.....	36
3.1.2.	Exclusões.....	37
3.2.	Seleção de doador	37
3.2.1.	Inclusões.....	38
3.2.2.	Exclusões.....	38
3.3.	Monitorização clínica de doadores e receptores.....	39
3.4.	Plano de tratamento	39
3.5.	Condicionamento	39
3.6.	Profilaxia de sistema nervoso central (SNC).....	40
3.7.	Profilaxia e tratamento da DECH.....	41
3.8.	Tratamento de suporte.....	44
3.8.1.	Profilaxia e tratamento das infecções	44
3.8.2.	Profilaxia e tratamento das complicações hemorrágicas, transfusão de plaquetas e de hemácias.....	45
3.8.3.	Suporte nutricional.....	46

3.9.	Crêterios utilizados para a definição de <i>pega</i> e falência do enxerto	46
3.9.1.	Utilização de fatores de crescimento hematopoiéticos	
	pós-transplante	47
3.10.	Coleta de medula óssea	47
3.11.	Infusão da medula óssea	47
3.12.	Mobilização e coleta das CPP	48
3.12.1.	Mobilização das CPP por rhG-CSF	48
3.12.2.	Coleta de CPP por aférese	49
3.12.2.1.	M�terias e técnicas	49
3.13.	Infusão de CPP	50
3.14.	Controles laboratoriais	50
3.15.	Análise estatística	52
4.	Resultados	53
4.1.	Pacientes	54
4.2.	Mobilização e coleta das células progenitoras periféricas alogênicas	56
4.3.	Características do enxerto	57
4.4.	Recuperação hematológica	59
4.5.	DECH aguda e crônica	63
4.6.	Falência do enxerto	67
4.7.	Recidivas	68
4.8.	Causas de morte	68
4.9.	Sobrevida	69
5.	Discussão	71
6.	Conclusões	83
7.	Summary	85
8.	Referências bibliográficas	88

Apêndices

Resumo

Este é um estudo randomizado, desenvolvido com base na comparação entre os transplantes alogênicos de medula óssea (MO) e aqueles de células progenitoras periféricas (CPP), os quais são utilizados no tratamento de doenças hematológicas malignas. Para tal, deu-se ênfase à pega, à doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) aguda e crônica, bem como às sobrevidas dos pacientes. De 02/1995 até 10/1997, 40 pacientes receberam um transplante HLA idêntico, originado da MO (grupo A) ou CPP (grupo B). O total de pacientes avaliáveis no final do estudo foi de 19 (grupo A) e 18 (grupo B), respectivamente. A mediana de idade foi de 35 anos (17-56) no grupo A e 29,5 (9-51) no grupo B ($P=0,17$). O regime de condicionamento utilizado foi Bu (16)/Cy (120) em 16 pacientes no grupo A e 17 no grupo B; Bu (16)/ Cy (120)/ VP-16 (40) em 3 pacientes no grupo A e Cy (120)/ irradiação corporal total (ICT) (13,2 Gy) em 1 paciente no grupo B. A profilaxia da DECH utilizada foi ciclosporina (CSP)/Metotrexato em 16 pacientes no grupo A e em 18 pacientes no grupo B; e 3 pacientes receberam CSP/prednisona no grupo A. As CPP foram mobilizadas com G-CSF, 10 μ g/kg/dia, durante 5 dias e colhidas no quinto dia, em uma única sessão de aférese, na maioria dos pacientes. O conteúdo mediano de células CD 34⁺ x 10⁶ /Kg/receptor foi de 5,26 (1,19-17,55) no grupo A e 4,71 (1,26-71,61) no grupo B ($P=0,40$). A mediana de dias para se atingir o número absoluto de neutrófilos (NAN) > 0,5 x 10⁹/l foi de 18 (13-30) no grupo A e 16 (11-25) no grupo B ($P=0,15$). As contagens de plaquetas > 20 x 10⁹/l ocorreram no dia +17 (10-40) no grupo A e +12 (9-36) no grupo B ($P=0,01$). A mediana do dia para a alta hospitalar foi +26 (18-48) no grupo A e +21 (18-42) no grupo B ($P=0,08$). A probabilidade de DECH aguda $\geq$ grau 2 foi de 19% no grupo A e 27% no grupo B, respectivamente ($P=0,53$). Nossos dados sugerem que a grande maioria dos pacientes que receberam CPP apresentarão DECH crônica, com uma tendência estatística superior nesse grupo ($P=0,08$). A forma extensa da doença ocorreu em 50% e 100%, nos grupos da MO e CPP,

respectivamente ($P=0,05$). A estimativa de sobrevida global (SG) para os grupos A e B, em 1000 dias, foi de 51% e 47%, respectivamente ($P=0,67$). A sobrevida livre de doença (SLD) em 1000 dias foi de 52% e 58%, respectivamente ($P=0,50$). Em conclusão, a pega do enxerto foi similar em ambos os grupos, exceto para a recuperação de plaquetas que ocorreu mais precocemente no grupo que recebeu CPP ($P=0,01$); a alta hospitalar foi mais precoce no grupo da CPP, porém sem significado estatístico; não houve diferença de acometimento da DECH aguda. Nossos dados sugerem que a grande maioria dos pacientes do grupo que recebeu CPP apresentará DECH crônica, com predomínio da forma extensa. Não houve diferença quanto a SG e SLD em ambos os grupos.

1. Introdução

1.1. História

A primeira tentativa de transplante de medula óssea (MO) foi feita há aproximadamente um século. Entretanto, só a partir dos eventos de Alamogordo, Novo México, e das observações das vítimas da bomba atômica de Hiroshima e Nagasaki, em 1945, é que foram iniciadas as investigações sistemáticas no campo do transplante de MO (SANTOS, 1983). JACOBSON *et al.* (1951) e LORENZ *et al.* (1951) mostraram que camundongos irradiados com doses de irradiação gama tóxica para a MO sobreviveriam, se o baço, um órgão hematopoético no camundongo, fosse protegido, ou se células provenientes do baço ou da medula fossem infundidas após a irradiação. Logo após, foi demonstrado que o quimerismo poderia ser produzido em camundongos, ratos, coelhos, cachorros, chimpanzés e humanos. Além disso, foi estabelecido que a administração intravenosa de suspensão de células da MO era a maneira mais efetiva de estabelecer um estado de quimerismo, após uma irradiação corporal total, e que o número de células alogênicas necessárias para uma ótima reconstituição hematopoética era 10 a 80 vezes maior quando comparado ao proveniente de uma medula singênica (van BEKKUM e de VRIES, 1967). Uma outra observação foi que camundongos transplantados com uma medula geneticamente não idêntica geralmente desenvolviam uma *segunda doença*, caracterizada por alterações cutâneas, perda de pelos, diarreia e anormalidades hepáticas - uma síndrome denominada, posteriormente, doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) (van BEKKUM e de VRIES, 1967).

Apesar de alguns resultados promissores iniciais, os estudos clínicos compreendidos entre os finais da década de 50 e de 60 foram frustrantes e desapontadores. Os enxertos foram utilizados em pacientes terminais, que não sobreviviam o bastante para uma

posterior avaliação ou, se evoluíam aparentemente bem, geralmente desenvolviam DECH grave, infecções fúngicas e virais fatais (MATHÉ *et al.*, 1967; BORTIN, 1970).

Os cães foram animais muito úteis para o estudo dos transplantes de MO, como os desenvolvidos pelo grupo de Seattle e previamente sumarizado por THOMAS *et al.* (1975) (A), (B). Esses animais possuem um complexo de histocompatibilidade maior (CHM), chamado *canine leucocytes antigens* (DLA) (ALBERT *et al.*, 1973), que possibilita a utilização de famílias de cães nos estudos genéticos dos transplantes. De particular importância foi o fato de que estes animais foram os primeiros modelos em que se demonstrou o fator preditivo dos testes de histocompatibilidade, *in vitro*, nos resultados dos transplantes (STORB *et al.*, 1968).

O reconhecimento e a caracterização do CHM em humanos (o qual é denominado de *human leucocytes antigens* (HLA)) renovaram os esforços de investigação clínica, no final dos anos 60 e início dos 70, além de ter possibilitado uma seleção mais racional dos doadores, o que não era possível até então (THOMAS *et al.*, 1975 (A),(B); BACH e vanROOD, 1976 (A), (B), (C); SANTOS, 1983). A partir de então, este campo de estudo vem se desenvolvendo rapidamente. Em 1973, 8 grupos europeus realizaram um total de 16 transplantes alogênicos de MO; em 1983, 97 grupos fizeram 1353 transplantes. Em 1993, os números aumentaram para 260 centros e 7737 transplantes. Em 3092 casos os doadores foram alogênicos (2464 HLA idênticos, 147 doadores relacionados não idênticos, 25 transplantes de gêmeos idênticos e 456 não relacionados). Os 4645 pacientes restantes receberam transplante autólogo, 2450 proveniente de MO, 1830 de célula progenitora periférica (CPP) e 365 combinando MO e CPP. (GRATWOHL e HERMANS, 1995). Em 1995, o grupo europeu para transplante de sangue e medula (EBMT) relatou um total de 12101 transplantes de medula ou sangue, realizados na Europa por 343

grupos, em 31 países. Destes, 3858 (32%) foram alogênicos e 8243 (68%), autólogos. Dos transplantes autólogos, 1384 (17%) foram derivados da MO, 6504 (79%) de CPP e 355 (4%) combinavam MO e CPP. Em relação aos alogênicos, 571 (15%) foram originados de CPP e os 3287 (85%) restantes, de MO. As principais indicações foram as leucemias, com 4408 transplantes (36%), 2977 alogênicos (68%) e 1431 autólogos (32%); os linfomas com 4671 (39%), 272 alogênicos (6%) e 4399 autólogos (94%); anemia aplástica com 237 (2%), 237 alogênicos (100%) e 0 autólogos (0%); tumores sólidos com 2399 (20%), 17 alogênicos (1%) e 2382 autólogos (99%); doenças congênitas com 294 (2%), 294 alogênicos (100%) e 0 autólogo (0%); e outras com 92 transplantes (1%), 61 alogênicos (66%) e 31 autólogos (34%) (GRATWOHL *et al.*, 1997).

1.2. Transplante alogênico com CPP

Os transplantes de células progenitoras hematopoéticas possibilitam a substituição de uma hematopoese defeituosa, em pacientes com doenças neoplásicas e não neoplásicas, que afetam a MO. Este mesmo procedimento possibilitou um escalonamento de doses de quimioterapia e radioterapia, no tratamento de neoplasias malignas não hematológicas. Até recentemente, apenas a MO era utilizada como fornecedora de células progenitoras hematopoéticas, mas as limitações do transplante de MO convencional estimularam a pesquisa de outros meios alternativos, como, por exemplo, os tecidos fetais (especialmente fígado) e o sangue de cordão umbilical, os quais possuem células progenitoras transplantáveis, tendo porém, a desvantagem de ser em número limitado. Por isso, existe um interesse grande em se desenvolverem novas técnicas que possibilitem a expansão e/ou acúmulo destas células. A

constatação de que as CPP são encontradas em pequena quantidade no sangue periférico de adultos levou à investigação do uso do sangue periférico como mais uma alternativa para o fornecimento das CPP. A habilidade de mobilizar tais células do compartimento medular para a periferia, utilizando a quimioterapia e/ou fatores de crescimento hematopoético, possibilitou a colheita de um número suficiente de CPP para a realização dos transplantes. Estes avanços têm aumentado as opções de escolha tanto para os clínicos, como para os doentes, na área de transplante de célula progenitora hematopoética (AMOS e GORDON, 1995).

As CPP mobilizadas por fatores de crescimento, como fator estimulador de colônia de granulócitos ou granulócitos-macrófagos (G-CSF ou GM-CSF) têm substituído a MO como fonte de célula nos transplantes autólogos, após a utilização de quimioterapia mieloablativa (GRATWOHL *et al.*, 1996 (A)). Os transplantes autólogos utilizando CPP demonstraram ter vantagens posteriores sobre a MO, particularmente no que se refere à facilidade de colheita e na cinética favorável da recuperação hematopoética conduzindo a uma reconstituição acelerada do número de plaquetas e neutrófilos, alta hospitalar precoce e diminuição dos custos (SHERIDAN *et al.*, 1992; TO *et al.*, 1992; AGER *et al.*, 1995; SCHMITZ *et al.*, 1996 (B)). Estes avanços na mobilização e as vantagens obtidas no uso das CPP no transplante autólogo ocasionaram o desenvolvimento de pesquisas mediante a utilização de CPP mobilizadas com G-CSF, em pacientes submetidos a transplante alogênico (RUSSELL *et al.*, 1996).

Há muito tempo é sabido que precursores hematopoéticos circulam no sangue periférico, os quais poderiam ser utilizados para transplantes autólogos ou alogênicos (CAVINS *et al.*, 1962; GOODMAN e HODGSON, 1962; STORB *et al.*, 1967). Em humanos, a baixa concentração destas células inviabilizavam a colheita, por meio da aférese, com a tecnologia

existente até então (McCREDIE *et al.*, 1971). KESSINGER *et al.* (1989) numa tentativa de realizar um transplante alogênico com CPP, infundiram em um paciente uma série de 10 *buffy coats*, depletados em células T, coletadas de um doador que não tinha recebido fator de crescimento. Os neutrófilos recuperaram-se no dia +11 e a pega trilinear foi demonstrada no dia +27. Entretanto, a morte no dia +32 impossibilitou a avaliação da recuperação plaquetária e da DECH. Obviamente, 10 aféreses, com duração de 2-4 horas, não são práticas e têm custo elevado para serem utilizadas como rotina em doadores normais. Porém, a colheita de 1-3 aféreses, em pacientes com neoplasias malignas, após a administração de fator estimulador de colônia, pode produzir uma reconstituição hematológica rápida e duradoura, quando infundida após um tratamento mieloablativo (BENSINGER *et al.*, 1993 (A); BENSINGER *et al.*, 1994).

Estas observações levaram à demonstração de que a administração de fatores de crescimento, em indivíduos normais, aumentava o número de células progenitoras no sangue periférico, possibilitando, assim, sua colheita em grande quantidade, para a utilização em transplantes singênicos, e, potencialmente, em alogênicos (WEAVER *et al.*, 1993; DREGER *et al.*, 1994; SCHWINGER, 1993).

Os transplantes singênicos foram os ideais para o início dos estudos das CPP colhidas de doadores normais, já que a infusão de grande quantidade de células T singênicas não causa DECH grave. Vários transplantes singênicos com CPP foram realizados com sucesso, com pega duradoura e seguimento superior a 2 anos (WEAVER *et al.*, 1993). A administração de G-CSF, em doses relativamente altas, em doadores normais para colheita de CPP singênicas, ou granulócitos alogênicos, foi bem tolerada e sem efeitos colaterais significativos (BENSINGER *et al.*, 1993 (B); CASPAR *et al.*, 1993; WEAVER *et al.*, 1993). O primeiro transplante alogênico

usando CPP não modificadas, colhidas de um doador normal, após a utilização de G-CSF, foi realizado por DREGER *et al.* (1993) para o tratamento de um paciente com falência de um enxerto que não respondeu à infusão prévia de medula. O primeiro transplante alogênico primário utilizando CPP, as quais foram colhidas pós G-CSF, foi descrito por RUSSELL *et al.* (1993). As CPP foram utilizadas, neste caso, porque o doador tinha um alto risco para complicações anestésicas. O relato destes dois casos de transplantes alogênicos periféricos e o sucesso com os singênicos determinaram uma rápida aplicação desta tecnologia. Mais recentemente, um número maior de centros relatou o uso de CPP em vários pacientes, particularmente em leucemias avançadas (AZEVEDO *et al.*, 1995; BENSINGER *et al.*, 1995; KORBLING *et al.*, 1995 (B); RUSSELL *et al.*, 1995; SCHMITZ *et al.*, 1995; BACIGALUPO *et al.*, 1996; BENSINGER *et al.*, 1996 (A); SCHMITZ *et al.*, 1996 (C); URBANO-ISPIZUA *et al.*, 1996; MIFLIN *et al.*, 1997). Além disto, várias revisões sumarizaram a situação atual dos transplantes alogênicos utilizando as CPP (RUSSELL e HUNTER, 1994; GOLDMAN, 1995; HARADA, 1995; ANDERLINI e KORBLING, 1997). Os resultados destes trabalhos confirmaram que uma grande quantidade das células CD34⁺ podem ser mobilizadas valendo-se de doadores normais, após a utilização de G-CSF. Estas células promovem uma recuperação hematopoética duradoura, além de terem vantagens sobre a MO, por permitirem uma pega mais rápida. Teoricamente, as CPP alogênicas podem ter outras vantagens por apresentarem muitos linfócitos T e células *natural killer*, os quais poderão ter função no efeito *enxerto contra leucemia*, diminuindo, assim, o risco de recidiva após o transplante (RUSSELL *et al.*, 1996).

As questões éticas e práticas envolvidas nos transplantes alogênicos com CPP foram o tema de um encontro internacional realizado em Genebra em 1995, organizado pelo EBMT, além de constituírem um guia para a utilização desta técnica na prática clínica, elaborado

pelo grupo italiano de transplante de MO (GITMO) (GRATWOHL e SCHMITZ, 1996; MAJOLINO *et al.*, 1995 (A), 1996; RUSSEL *et al.*, 1996).

1.3. Transplante alogênico com CPP, em animais

MOLINEUX *et al.* (1990) foram os primeiros a realizar estudos, em animais, mediante transplantes singênicos de CPP, as quais foram mobilizadas com G-CSF. Os autores referidos utilizaram ratos de sexos diferentes para a avaliação do quimerismo e demonstraram que uma grande quantidade de CPP era capaz de reconstituir a hemopoese por longo tempo e, ainda, que tais células contribuíam para a recuperação da população linfóide do timo, após a utilização de irradiação mieloablativa.

Em modelos, valendo-se de camundongos, tanto o fator estimulador de célula progenitora (SCF), quanto o G-CSF, ou a combinação dos dois, aumentaram a concentração de unidades formadoras de colônias esplênicas (CFU-S) no sangue periférico (BUNGART *et al.*, 1990; MOLINEUX *et al.*, 1991; BODINE *et al.*, 1993; BRIDDELL *et al.*, 1993; NEBEN *et al.*, 1993; BODINE *et al.*, 1994). A administração de interleucina-8 (IL-8) também induziu a mobilização de CPP, as quais foram capazes de recuperar ratos irradiados com doses letais, propiciando uma reconstituição completa e duradoura do tecido hemopoético no receptor (LATERVEER *et al.*, 1995 (A)). Em primatas, o uso de SCF, G-CSF e, mais recentemente, de IL-8, aumentou o número de precursores hemopoéticos no sangue periférico (ANDREWS *et al.*, 1992; LATERVEER *et al.* (B), 1995). Estudos em cães demonstraram que o G-CSF e o SCF caninos foram capazes de mobilizar as CPP, possuindo uma ação sinérgica (REVEL *et al.*, 1994).

Com base em dados obtidos, mediante modelos de transplantes autólogos caninos, SANDMAIER *et al.* (1996) utilizaram G-CSF canino, isolado ou em combinação com SCF, para

determinar que estratégias de mobilização poderiam resultar em uma *pega* bem sucedida. Os cães foram condicionados com irradiação corporal total (ICT), na dose de 9,2 Gy, e não receberam imunossupressão, pós transplante. Os doadores utilizados foram tanto DLA genotipicamente idênticos, ou DLA haploidênticos. Todos os receptores apresentaram *pega* hematopoética, com células do doador confirmadas por citogenética ou *variable number tandem repeat* (VNTR). A qualidade da *pega* foi melhor nos transplantes alogênicos com CPP do que com medula isoladamente, situação em que 50% dos cães, historicamente, apresentavam falência ou rejeição do enxerto. Por outro lado, os nove cães que receberam enxertos haploidênticos desenvolveram DECH hiperaguda. Em nove transplantes com DLA idênticos, oito desenvolveram DECH, dos quais cinco foram transitórios e três fatais. A incidência e gravidade da DECH aguda não foi maior e nem menor do que se esperaria mediante o uso da medula de um doador DLA idêntico, quando não utilizada imunossupressão pós transplante. As células periféricas dos cães mobilizadas com fatores de crescimento hematopoético mostraram uma diminuição ou ausência completa de resposta a estímulos de linfócitos alogênicos, em cultura mista de leucócitos (CML). Estes achados são consistentes com aqueles realizados em células humanas, após tratamento *in-vitro* com G-CSF (GERRITSEN e O'REILLY, 1994).

GRATWOHL *et al.* (1996) (B) utilizando coelhos *Burgundy* vermelhos, como doadores, e coelhos *New Zealand* brancos, do sexo oposto, como receptores, demonstraram que CPP alogênicas mobilizadas com G-CSF humano promoviam a *pega* por intermédio de uma barreira de histocompatibilidade maior e com uma incidência de DECH que não foi diferente dos casos de MO, não manipulada.

Estes dados sugerem que transplantes com CPP alogênicas *pegam* melhor do que a MO e não causam mais DECH, apesar da infusão de um número maior de linfócitos, que, aliás, poderiam ser benéficos em situações de incompatibilidade.

1.4. Mecanismos envolvidos na mobilização

As células progenitoras hemopoéticas podem ser mobilizadas da MO por diversos estímulos, incluindo exercício, hormônio adrenocorticotrópico, endotoxinas, sulfato de dextran, quimioterapia e citocinas (TO *et al.*, 1997). Apesar dos estudos intensivos, o mecanismo que controla o movimento entre a MO e o sangue periférico ainda é desconhecido (LIU *et al.*, 1997).

A localização da hematopoese na MO envolve o desenvolvimento de interações de adesividade entre as células hematopoéticas primitivas e o estroma medular. Este fato e a grande variedade de agentes, os quais podem causar um aumento transitório de células progenitoras no sangue periférico, levaram alguns pesquisadores a propor que a mobilização está relacionada com uma alteração das interações de adesividade com os elementos estromais, que, em condições normais, são responsáveis pela retenção fisiológica dos progenitores, na MO. As células primitivas possuem uma grande variedade de moléculas de adesão celular (MAC) que incluem as integrinas, selectinas, superfamília da imunoglobulina e família CD44. Os ligantes, para muitas destas MAC, são expressos nas células estromais da MO (TO *et al.*, 1997).

Dois passos são necessários para a movimentação de células progenitoras para fora da MO. Primeiramente, devem ser rompidas as vias normais de adesividade que regulam as interações entre as células primitivas e o seu microambiente (*nicho*) e, em segundo lugar, receptores de adesão deverão ser expressos para que haja contato com o endotélio vascular, um pré requisito para o extravasamento (SANTUCCI *et al.*, 1997).

Um grande número de citocinas já provou ser capaz de mobilizar células progenitoras para o sangue periférico, como os G-CSF, GM-CSF, IL-3, SCF, IL-7, IL-8. Especula-se que a mobilização é resultante de mudanças induzidas pelas citocinas na expressão/função das MAC das células progenitoras, facilitando sua saída da MO, associada a alterações, também mediadas pelas mesmas citocinas, na expressão dos receptores das MAC, nos elementos estromais da MO (SIMMONS *et al.*, 1994). De acordo com esta hipótese, estudos experimentais, em primatas, confirmaram que a perturbação da função das MAC (seguindo a administração de anticorpo contra a integrina $\alpha 4 \beta 1$) resultou na mobilização de células progenitoras (PAPAYANNOPOULOU e NAKAMOTO, 1993).

SIMMONS *et al.* (1994) demonstraram alterações da expressão de 6 MAC nas células CD34⁺, mobilizadas para o sangue periférico, utilizando diferentes regimes associando quimioterapia e fatores de crescimento (ciclofosfamida, G-CSF, GM-CSF e IL-3). Foram elas as integrinas $\alpha 4 \beta 1$, $\alpha 5 \beta 1$, $\alpha L \beta 2$, a própria cadeia $\beta 2$ (CD18), *LFA-3* (CD58) e a *c-kit* (CD117). Em todos os casos, os níveis destas moléculas estavam reduzidos nas células periféricas, quando comparados às CD34⁺ da MO. Dados semelhantes foram obtidos por WATANABE *et al.* (1997) que acharam uma diminuição significativa de MAC, $\alpha 4 \beta 1$, $\alpha L \beta 2$, *LFA-3* (CD58), $\alpha 5 \beta 1$ e molécula de adesão *intercelular 1* (ICAM-1), nas células periféricas mobilizadas por GM-CSF, comparadas às CD34⁺ da MO.

Por outro lado, a função da integrina $\alpha 4 \beta 1$, medida por sua capacidade de se ligar ao ligante do estroma da MO *VCAM-1* nas células CD34⁺ periféricas mobilizadas, não foi diferente das originadas da MO, apesar de haver uma redução de quase 50% em sua expressão, nas células periféricas. Em relação à $\alpha L \beta 2$, não houve nenhuma atividade de adesividade desta integrina,

tanto em células da MO como em sangue periférico. Desta maneira, parece que a $\alpha 4\beta 1$, e não a $\alpha L\beta 2$, é que contribui para o fenótipo de adesividade das células CD34⁺ (SIMMONS *et al.*, 1994).

As células CD34⁺ periféricas, mobilizadas por fatores de crescimento, foram examinadas quanto à capacidade de se ligarem a vários componentes da matriz extracelular, sintetizados pelas células estromais da MO. Essas células demonstraram um aumento de adesividade à fibronectina, laminina e colágeno tipo IV, quando comparadas às da MO. Desta maneira, a mobilização estaria associada a um aumento das propriedades de adesividade. Estas observações, à primeira vista, parecem ser paradoxais, mas a ligação a componentes da membrana basal (colágeno tipo IV) das células sinusoidais endoteliais é um eventual pré-requisito da saída para a circulação (SIMMONS *et al.*, 1994).

Estes dados, portanto, sugerem que a mobilização das células progenitoras hemopoéticas podem, pelo menos em parte, resultar de alterações induzidas por citocinas na função das integrinas, nas células CD34⁺, facilitando sua saída da MO (TO *et al.*, 1997). Entretanto, nota-se que a rapidez e a transitoriedade das alterações nas propriedades de adesividade observadas *in vitro*, após o tratamento das células progenitoras com citocinas, não está de acordo com a cinética de liberação *in vivo*, a qual ocorre após vários dias, seguindo, por exemplo, a administração de G-CSF (SHERIDAN *et al.*, 1992).

Uma das observações mais intrigantes é a marcante redução da expressão da *c-kit* nas células CD34⁺ periféricas mobilizadas, quando tal redução é comparada ao nível das células provenientes da MO (SIMMONS *et al.*, 1994). Esta redução é relacionada inversamente com o produto das células progenitoras coletadas por leucaférese (SIMMONS *et al.*, 1994). O

mecanismo responsável por esta alteração da expressão continua desconhecido, embora ocorra uma alteração na densidade do antígeno *c-kit* na MO, antes da saída das células para a circulação. O ligante da *c-kit*, o SCF, é um potente *downregulator* de *c-kit* nas células CD34⁺, sendo dose-dependente (SIMMONS *et al.*, 1994). CYNISHI *et al.* (1991) mostraram, anteriormente, que nos camundongos com mutações *Steel* ou *WW* (incapacidade de produzir SCF solúvel, ou defeito do receptor *c-kit*, respectivamente) o G-CSF foi menos eficiente em mobilizar as células progenitoras do que nos camundongos sem as mutações. Assim, a resposta da mobilização ao G-CSF poderia ser de fato uma resposta G-CSF + SCF. A falta do receptor do G-CSF pode prejudicar a mobilização induzida por ciclofosfamida e IL-8 e não por flt-3, mostrando que este receptor pode ter um papel importante na migração das células progenitoras, até então inesperado (LIU *et al.*, 1997).

1.5. Características fenotípicas, funcionais e biológicas das CPP mobilizadas por fator de crescimento

O antígeno CD 34⁺ vem sendo utilizado como identificador das células progenitoras. Ele está presente em 1% a 4% das células da MO responsáveis pela formação das colônias hematopoéticas e que são capazes de reconstituir a hematopoese, indicando que as células progenitoras pluripotenciais estão presentes dentro deste compartimento. No entanto, as células CD 34⁺, na periferia, correspondem a 1/10 da concentração da MO (BENDER *et al.*, 1991).

As características fenotípicas das CPP colhidas, após a utilização de fatores de crescimento, são uma mistura de precursores hemopoéticos primitivos e comprometidos, não apresentando diferenças marcantes com as da MO. A análise antigênica das células periféricas CD 34⁺ revela que elas co-expressam uma variedade de antígenos de diferenciação. As subpopulações com antígenos mielóides, como o CD33, parecem ser progenitores comprometidos e provavelmente responsáveis pela primeira fase da recuperação hematopoética. Em contraste, as que não apresentam antígenos associados tanto à linhagem (por ex. CD33) ou à ativação (HLA-DR, CD38), são consideradas mais primitivas e contribuem para a sustentação da hematopoese (células que reconstituem a hematopoese a longo termo). Assim, podem ser encontradas as seguintes subpopulações: CD34⁺/CD33⁺, CD34⁺/CD 38⁻, CD34⁺/HLA-DR.

Por outro lado, os linfócitos são pouco afetados pelo tratamento com G-CSF, havendo um aumento de linfócitos T, 1.1 a 1.5 vezes em relação ao basal (BENDER *et al.*, 1991; TJONNFJORD *et al.*, 1994; TO *et al.*, 1994; KORBLING *et al.*, 1995 (A)).

A resistência ao 5-Fluorouracil (5-FU) foi usada para identificar e caracterizar, funcionalmente, células quiescentes primitivas da MO (células iniciadoras de cultura de longo termo - LTC-IC). Em humanos, as células periféricas mobilizadas por G-CSF, e que também são resistentes ao 5-FU em cultura, apresentam similaridade com as da MO, mostrando uma mistura heterogênea de progenitores hemopoéticos, além de serem capazes de expansão mediada por citocinas *in-vitro*. (DOOLEY e LAW, 1992; RICE *et al.*, 1993, 1995). Assim, em indivíduos normais, o G-CSF efetivamente mobiliza as LTC-IC para o sangue, com características fenotípicas e funcionais de populações primitivas e maduras (PROSPER *et al.*, 1996).

Estudos recentes, tanto em camundongos, quanto em pacientes, revelaram que a maioria (>90%) das células primitivas identificadas, seja pela expressão do CD34⁺, seja pela capacidade de serem detectadas como células formadoras de colônias (CFC), encontradas no sangue periférico após tratamento mobilizador, estavam na fase G0 ou G1 do ciclo celular, embora as CFC pudessem ser ativadas rapidamente, após exposição a fatores de crescimento, *in vitro* (ROBERTS e METCALF, 1995; LEITNER *et al.*, 1996).

PONCHIO *et al.* (1997) comparando o conteúdo de LTC-IC na leucaférese colhida de pacientes que receberam quimioterapia e G-CSF e o seu número total na circulação, na hora do início da colheita, observaram que um número muito maior de LTC-IC eram colhidas, quando comparadas àquelas originalmente presentes no sangue periférico, antes do início do procedimento. Isto mostra que estas células eram recrutadas para a circulação durante a aférese. Este fato contrastou com a população de CFC, que apresentou uma diminuição na circulação, sugerindo serem tais células mobilizadas mais lentamente ou que saíam mais rapidamente da circulação. Nenhuma das duas populações, no entanto, apresentaram um aumento da atividade proliferativa, quando elas foram comparadas às suas correspondentes na MO. Portanto, outras propriedades biológicas poderiam ser responsáveis pela rapidez da recuperação hematológica obtida com os transplantes de CPP, comparados aos de MO, com células não manipuladas (PONCHIO *et al.*, 1997).

Dados recentes indicam que as CPP apresentam uma capacidade intrínseca para reconstituir os neutrófilos mais rapidamente, o que não está somente relacionado ao número de células formadoras de colônias de granulócitos e monócitos (CFU-GM) infundidas (SCOTT *et al.*, 1997). Assim, estes autores confirmaram que as CPP apresentavam uma baixa atividade do ciclo

celular, *in vivo*, mas eram capazes, no entanto, de uma rápida ativação, *in vitro*. Além do mais, demonstraram que, em contraste com os progenitores derivados da MO, os do sangue não apresentavam atraso na proliferação, atraso esse causado pelas células estromais da MO. Estas reduzem a probabilidade de as células entrarem em um ciclo celular (GORDON *et al.*, 1996). Outra característica é que os progenitores periféricos produzem, preferencialmente, mais células formadoras de colônias de granulócitos e monócitos (CFU-GM), em detrimento das unidades formadoras de colônia de eritrócitos (BFU-E). Tanto a resposta reduzida de mediação das células estromais da MO, quanto a produção seletiva de progenitores granulocíticos poderiam contribuir para uma rápida recuperação dos neutrófilos, nos transplantes com CPP (SCOTT *et al.*, 1997).

1.6. Composição celular do produto da aférese

A colheita de CPP de doadores normais possui diferenças significativas em relação à da MO. O número de células CD 34⁺, presente na aférese, poderá ser até 5 vezes maior do que o encontrado na MO (AVERSA *et al.*, 1994; DREGER *et al.*, 1994; BENSINGER *et al.*, 1995; KORBLING *et al.* 1995 (A), (B)). O aumento de CFU-GM e BFU-E, após a utilização de 4 dias de G-CSF, foi de 38 e 14 vezes, respectivamente, em relação aos valores basais. Foi coletada uma mediana de 30×10^4 /kg de colônias de CFU-GM (9,8 a $48,3 \times 10^4$ /kg) e 30×10^4 /kg de BFU-E (13,2 a $63,3 \times 10^4$ /kg) (SCHMITZ *et al.*, 1995). O produto da leucaférese também apresenta, pelo menos, 1 log a mais de CD3⁺, CD4⁺ e CD8⁺, e muitos receptores receberão mais do que 2×10^8 de CD3⁺/kg (DREGER *et al.*, 1994; BENSINGER *et al.* 1995; KORBLING *et al.*, 1995 (A), (B); SCHMITZ *et al.*, 1995). Estes dados sugeriram inicialmente que isto poderia resultar em um aumento na frequência da DECH (Tabela 1).

Tabela 1: *CNT, CD34⁺ e população linfocitária coletados de sangue periférico e MO de doadores normais*

<i>Tipo Excerto</i>	<i>CNT</i>	<i>CD34⁺</i>	<i>CD3⁺</i>	<i>CD4⁺</i>	<i>CD8⁺</i>	<i>CD19⁺</i>	<i>CD56⁺</i> <i>CD3</i>
CPP x 10 ⁶ /kg	1.336,6 (563-113)	11,7 (4,2-40,1)	393,2 (104,6-1039,9)	257,4 (91,9-663,4)	153,6 (21,5-402,3)	79 (25,5-189)	54,4 (13,7-193,1)
MO x 10 ⁶ /kg	292,5 (28,1-674,4)	3,2 (0,5-10,9)	24,4 (15,8-33,7)	19,3 (10,5-30,3)	5,6 (1,7-11,5)	7,2 (1,9-14,1)	2,8 (1,1-5,1)

Valores dados em mediana com a variação entre parênteses. Abreviações: Kg, peso do receptor em Kg; CNT, células nucleadas Totais. KORBLING *et al.* (A), 1995

O risco de DECH aguda, no entanto, parece não aumentar após os transplantes alogênicos com CPP, apesar da infusão de mais de um a dois *logs* de células T, comparadas à MO (KORBLING *et al.*, 1995 (B); SCHMITZ *et al.*, 1995). Existem várias explicações para isto: 1) Estudos *in vitro* identificaram um aumento de atividade de células supressoras e de CD4⁺, CD8⁺, TCR e α/β ⁺, fenótipo homólogo às células supressoras naturais, em transplantes autólogos, com CPP mobilizadas com GM-CSF (TALMADGE *et al.*, 1996). A colheita de CPP alogênicas parece produzir, também, um aumento de células supressoras naturais (CD3⁺, CD4⁺ e CD8⁺) (KORBLING *et al.*, 1995 (A); NEGRIN *et al.*, 1996), células essas que poderiam suprimir a DECH aguda, em modelos de animais, e inibir a cultura mista de linfócitos (STROBER *et al.*, 1987; SCHMIDT-WOLF *et al.*, 1992); 2) As células T, no produto da aférese mobilizado por G-CSF, são funcionalmente diferentes das provenientes da MO. O G-CSF poderia alterar a função dos linfócitos infundidos ou a produção de citocinas pelas células acessórias. O suporte para esta teoria veio de estudos em camundongos, em que doadores pré tratados com G-CSF, polarizavam a resposta de células T, em direção à produção de citocinas do tipo 2, IL-4 e IL-10

(resposta anti-inflamatória), associada a uma redução de citocinas do tipo 1, interferon γ (IFN- γ) e IL-2 (pró-inflamatórios), com uma correspondente redução da DECH aguda e aumento da sobrevida (PAN *et al.*, 1995); 3) A baixa incidência de DECH aguda grave, após transplantes alogênicos com CPP, poderia ser também explicada pelo aumento da relação linfocitária CD4⁺/CD8⁺. Parece que a redução de CD8⁺ diminui a incidência e a gravidade da DECH aguda (HASSAN *et al.*, 1996); 4) Os enxertos de CPP contêm células que causam a apoptose de células T. O isolamento e a caracterização destas células revelaram que correspondem a monócitos. Esta poderia ser mais uma razão para a diminuição da DECH nos pacientes transplantados com CPP alogênicos (INO *et al.*, 1997); 5) Finalmente, uma última teoria, a qual é menos provável, seria esta segundo a qual existe um número de células T presentes no enxerto, suficientes para produzir o máximo possível de gravidade da DECH, e que um aumento da dose não teria efeito adicional. Esta hipótese formulou-se com base em estudos de transplantes alogênicos, depletados de células T. A dose limite identificada foi de 10⁵ células CD3 residuais/kg. Abaixo deste nível, a DECH aguda foi, significativamente, reduzida (KERNAN *et al.*, 1986; VERDONCK *et al.*, 1994).

As células precursoras, capazes de adquirir atividade *lymphokine-activated killer* (LAK) induzida por IL-2, foram identificadas na aférese contendo CPP e no sangue de pacientes, após transplantes autólogos, mobilizadas por G-CSF/GM-CSF. As colheitas mais precoces continham maior número de LAK cells e poderiam ser as mais adequadas para manipulação, *ex-vivo* (NEUBAUER *et al.*, 1994; FEGAN *et al.*, 1995; VERBIK *et al.*, 1995). A frequência de células *natural killer* (NK), fenótipo CD56⁺, estava aumentada no produto mobilizado, além de ter apresentado uma reconstituição acelerada da sua atividade, quando comparado aos transplantes autólogos com MO (MILLS *et al.*, 1996; TALMADGE *et al.*, 1997).

Em relação aos transplantes com CPP alogênicos, também um número elevado de células *natural killer*, CD56⁺ CD3⁻, estava presente na aférese, representando dose aproximada de 50 x 10⁶ /kg, um aumento de 20 vezes, em relação ao encontrado na MO (DREGER *et al.*, 1994; BENSINGER *et al.*, 1995; KORBLING *et al.* 1995 (A); KORBLING *et al.* 1995 (B); SCHMITZ *et al.*, 1995).

Comparados aos pacientes que receberam transplante alogênico com MO, os receptores de CPP tinham contagem maior de linfócitos T *helper* imaturos (CD4⁺, CD45RA⁺), de memória (CD4⁺, CD45RO⁺), células B (CD 19⁺), além de resposta proliferativa aumentada a mitógenos (fitohemaglutinina e *pokeweed*) e antígenos (toxóide tetânico, cândida e herpes simples tipo I) (OTTINGER *et al.*, 1996).

Ainda é incerto se os altos números de células T e *natural killer*, contidas numa colheita de CPP típica, exercem algum efeito *enxerto versus leucemia*, reduzindo o risco de recidiva, e se, portanto, aumentam a sobrevida livre de doença. Estudos em camundongos com leucemia, transplantados com CPP alogênicas idênticas, e não com MO, mostraram uma superioridade da atividade antileucêmica nos transplantes com CPP, sugerindo um aumento do efeito enxerto contra leucemia, sem aumentar a DECH (GLASS *et al.*, 1997).

O número real de células CD 34⁺, *natural killer* e vários subtipos de T infundidas, dependerá, obviamente, da quantidade de aféreses realizadas. Estes dados demonstram que a composição das CPP é muito diferente da MO. Isto tem o potencial de alterar os resultados do transplante no que concerne à incidência e à gravidade da DECH, rejeição, cinética da pega, reconstituição imune pós-transplante e a magnitude do efeito enxerto-contra leucemia (RUSSELL *et al.*, 1996).

1.7. Colheita de CPP após a administração de fator de crescimento recombinante em doadores normais

As experiências prévias dos transplantes autólogos e singênicos utilizando CPP, mobilizadas por fatores de crescimento, extrapolaram a utilização desta tecnologia para os transplantes alogênicos, especialmente após o acúmulo de dados referentes à dose de células necessárias para a *pega* do enxerto e a toxicidade relacionada à utilização de fatores de crescimento (BENSINGER *et al.* 1993 (A); WEAVER *et al.*, 1993; BENSINGER *et al.*, 1994).

Embora outros fatores de crescimento foram avaliados em animais e humanos, para a utilização em transplantes autólogos, o G-CSF foi a medicação predominantemente utilizada em doadores normais, para colheita de granulócitos ou CPP, em razão de sua baixa toxicidade. A administração de doses, variando de 2,5 - 24µg/kg/d, foi bem tolerada, sendo os efeitos colaterais mais comuns, a dor óssea, a astenia, a cefaléia, a mialgia, a febre, o aumento rápido dos leucócitos periféricos (entre 40 a 60 x 10⁹/l), sem alteração nos níveis de hemoglobina, elevação transitória da fosfatase alcalina, LDH e hipopotassemia (BENSINGER *et al.*, 1993 (B); CASPAR *et al.*, 1993; MATSUNAGA *et al.*, 1993; DREGER *et al.*, 1994; AZEVEDO *et al.*, 1995; BENSINGER *et al.*, 1995; MAJOLINO *et al.*, 1995 (B); SCHMITZ *et al.*, 1995; BACIGALUPO *et al.*, 1996; HARADA *et al.*, 1996; KORBLING *et al.*, 1996; MARTINEZ *et al.*, 1996; SCHMITZ *et al.*, 1996 (C); SICCA *et al.*, 1996; WALLER *et al.*, 1996; URBANO-ISPIZUA *et al.*, 1996).

Pouco é sabido sobre os efeitos tardios do tratamento com rhG-CSF e da aférese no sistema hematopoético normal. MARTINEZ *et al.* (1996) observaram linfocitopenia no 7º dia após a colheita, havendo uma tendência de retorno aos níveis basais 30-90 dias, após o procedimento. Dez doadores receberam rhG-CSF, 12µg/kg/d, por 3-4 dias, seguido-se uma única

ou mais aféreses. Os números de CD34⁺ e a subpopulação linfocitária do sangue periférico foram monitorizados antes e durante o tratamento com a citoquina, anteriormente à aférese, nos 2º, 4º, 7º, 30º e 100º dias, após a colheita. O pico das células progenitoras na circulação antes da aférese foi seguido por um *nadir* por volta do 7º dia, exceto para as mais primitivas, CD34⁺ Thy-1^{dim} CD38⁻, que atingiram o *nadir* em torno do 30º dia. Os valores basais dos leucócitos totais e das células CD34⁺ foram atingidos por volta do 30º dia, e os subtipos CD34⁺ Thy-1^{dim} CD38⁻, em torno do 100º dia. As subpopulações linfocitárias como CD3⁺ 4⁻ 8⁻, células supressoras (CD3⁺ 4⁻ 8⁻) e as células B (CD19⁺) mostraram características similares, com o *nadir* acontecendo por volta do 7º dia seguido, exceto para as células B, por um rebote em torno do 30º dia e contagens subnormais, no 100º dia (KORBLING *et al.*, 1996).

Além dos efeitos tardios do G-CSF, os doadores de CPP foram submetidos a uma ou mais aféreses, que são consideradas de baixa morbidade e mortalidade. Entretanto, um doador com história de angina apresentou um infarto do miocárdio durante o procedimento da aférese (RUSSELL *et al.*, 1996).

As leucaféreses das células progenitoras do sangue, com processamento de 12-14 litros por dia, em separadores de células de fluxo contínuo, são procedimentos bem estabelecidos podendo ser realizados em nível ambulatorial. É aconselhável usar apenas veias periféricas em doadores normais. Os cateteres venosos centrais são utilizados por alguns grupos, apesar dos riscos inerentes, como o relato de pneumotórax (URBANO-ISPIZUA *et al.*, 1996).

Embora o procedimento da leucaférese seja seguro, tanto uma única colheita em grande volume, como várias aféreses, estão associadas a um risco de plaquetopenia, pela remoção de plaquetas para o produto coletado. Plaquetopenias, abaixo de $100 \times 10^9/l$, foram descritas por

alguns grupos, porém sem repercussão clínica (BENSINGER *et al.*, 1993; DREGER *et al.*, 1994; AZEVEDO *et al.*, 1995; MAJOLINO *et al.*, 1995 (B); BACIGALUPO *et al.*, 1996; BANDARENKO *et al.*, 1996; HARADA *et al.*, 1996; KORBLING *et al.*, 1996; MARTINEZ *et al.*, 1996; OKAMOTO *et al.*, 1996; URBANO-ISPIZUA *et al.*, 1996; WALLER *et al.*, 1996). Não se pode descartar, igualmente, uma ação direta do G-CSF, já que uma diminuição, dose dependente da contagem das plaquetas, foi descrita, após vários dias de uso desta medicação. A comparação entre doadores de granulócitos, tratados e não tratados com G-CSF, sugeriu um papel do fator de crescimento no desenvolvimento da plaquetopenia (LINDEMANN *et al.*, 1989; BENSINGER *et al.*, 1993). Foi relatado, também, plaquetopenia persistente e progressiva, após a leucaférese. Um doador recebeu G-CSF 5µg/kg de 12/12hs, por 5 dias e após a primeira sessão, a contagem caiu de $179 \times 10^9/l$ para $99 \times 10^9/l$ e para $65 \times 10^9/l$, após a segunda. Os números continuaram caindo, mesmo após a suspensão da medicação, e alcançaram o valor mais baixo de $47 \times 10^9/l$ no 7º dia (OKAMOTO *et al.*, 1996). Uma possível explicação é que a ativação plaquetária, causada pela administração do G-CSF e/ou pela leucaférese, poderia resultar em uma rápida remoção das plaquetas da circulação. Vários mediadores, como por exemplo, o fator ativador de plaqueta (PAF), podem ser liberados dos neutrófilos, ativados pelo G-CSF ou pela leucaférese. Um outro motivo para explicar a plaquetopenia tardia seria a supressão da trombopoese, pela expansão da granulopoese. Entretanto, os resultados de estudos clínicos e em animais parecem não dar sustentação a esta possibilidade (OKAMOTO *et al.*, 1996). Existe também a possibilidade de um aumento da agregação plaquetária, induzida por ADP e colágeno, após a utilização de G-CSF. Esta situação deverá ser lembrada, particularmente, em doadores de risco para infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral ou doenças vasculares periféricas (HARADA *et al.*, 1996).

Existe uma preocupação em relação à utilização de G-CSF em doadores normais, quanto ao aparecimento de alterações hematológicas, incluindo uma possível transformação leucêmica (HASENCLEVER & SEXTRO, 1996). Esta complicação seria difícil ou impossível de avaliar após transplantes autólogos, em que as síndromes mielodisplásicas são relativamente comuns (STONE *et al.*, 1994). A experiência pioneira de Seattle, com mais de 60 doadores normais que foram estimulados com G-CSF para colheita de CPP, não mostrou aparecimento de problemas hematológicos, num acompanhamento de 4 anos (WEAVER *et al.*, 1993; BENSINGER *et al.*, 1993, 1995).

As vantagens para o doador de CPP, em relação à colheita de MO, inclui a não utilização da anestesia geral e a não exposição a riscos como embolia pulmonar, pneumonias aspirativas e parada cardiorespiratória. Em uma revisão de 1549 medulas colhidas no Fred Hutchinson Cancer Research Center, 27% tiveram complicações significativas, incluindo 3% que foram consideradas maiores (mais de 5 unidades de sangue administradas, 21 dias ou mais de dor no local da colheita e hipotensão acentuada) e 0,4% associadas a risco de vida (parada cardíaca, septicemia, hipotensão grave e osteomielite) (BUCKNER *et al.*, 1994).

1.8. Dose de CPP para Transplante Alogênico

O número de células CD34⁺, por kilo de peso do receptor, tem sido o mais importante indicador para uma adequada hematopoese, nos transplantes autólogos (BENSINGER *et al.*, 1993; BENSINGER *et al.*, 1994). Muitos grupos têm associado quantidades acima de $2,5 \times 10^6/\text{kg}$, com a rapidez da *pega* (BENDER *et al.*, 1992; HASS *et al.*, 1994; HAYNES *et al.*, 1995).

O número de células coletadas na periferia também tem sido uma preocupação nos transplantes alogênicos, além da determinação da melhor dose do fator de crescimento, do tempo ideal para o início da aférese e de outros fatores que podem influenciar uma boa mobilização de células progenitoras para a circulação. Como nos autólogos, correlaciona-se o número de CD34⁺ com a cinética da *pega*.

DREGER *et al.* (1994) relataram que o pico das células CD 34⁺ no sangue periférico de doadores voluntários, tratados com G-CSF na dose de 10µg/kg/d, aparecia após a quarta dose de G-CSF. Este dado é idêntico ao descrito por SHERIDAN *et al.* (1992) em pacientes com câncer. Resultados similares, utilizando a mesma dosagem, foram descritos por SCHMITZ *et al.* (1995). HARADA *et al.* (1996) investigaram o escalonamento de dose do G-CSF (5, 10, 15µg/kg) e concluíram que um número suficiente de células poderia ser coletado, usando-se 10µg/kg por 5 dias. ANDERLINI *et al.* (1996) utilizando 12µg/kg/d, demonstraram que a colheita no 5º dia resultava num número maior de células CD34⁺. Doses ainda maiores, 16µg/kg/d, foram utilizadas por WEAVER *et al.* (1993) em doadores singênicos e por BENSINGER *et al.* (1995), MAJOLINO *et al.* (1995) (B) e WEINTHAL *et al.* (1996) em doadores alogênicos. Os resultados também não foram diferentes. Doses menores, diárias, foram adotadas em outros centros para mobilização, em indivíduos normais. MATSUNAGA *et al.* (1993) trataram três voluntários com G-CSF 2,5µg/kg/d, do 1º ao 6º dia, seguido por 5,0µg/kg/d do 7º ao 10º dia. Estes doadores obtiveram o pico de colônias CFU-GM no 6º dia, mas a manutenção do fator de crescimento não aumentou os níveis de CFU-GM circulante. SATO *et al.* (1994) usaram 2µg/kg/d da mesma medicação por 5 dias e obtiveram um aumento de CFU-GM no 6º dia. Os autores concluíram, também, que o aumento máximo de progenitores ocorre 6 horas após a última dose do G-CSF e perdura por mais de 30 horas. FRITSCH *et al.* (1994) mostraram

que 5µg/kg/d, tanto de G-CSF ou GM-CSF, durante 5 dias, produziam um aumento significativo de células CD34⁺ no 5º dia. Além disto, quantidades suficientes poderiam ser coletadas com uma única aférese. BISHOP *et al.* (1997) mobilizaram células de 41 doadores relacionados, HLA idênticos, com G-CSF, 5 µg/kg/d, com a aférese começando no 4º dia. Houve mobilização eficiente e segura de células progenitoras sanguíneas.

Uma administração prolongada de G-CSF por mais de 7-8 dias parece não aumentar e nem sustentar a mobilização de CD34⁺ (GRIGG *et al.*, 1995). Apesar da ótima dose de G-CSF para mobilização em doadores normais não ser absolutamente estabelecida, é claro que muitos deles, tratados com 10µg/kg/d de G-CSF, mobilizarão um número suficiente de células CD34⁺ (DREGER *et al.*, 1994; GRIGG *et al.*, 1995; HARADA *et al.*, 1996), resultando em uma colheita superior a $2,5 \times 10^6$ CD 34⁺/kg do receptor, após a realização de uma ou duas aféreses (SCHMITZ *et al.*, 1995).

O número ótimo de células CD34⁺ necessárias para uma *pega* hematopoética rápida nos transplantes alogênicos ainda não é claro. Muitos investigadores têm estabelecido um mínimo de $2-3 \times 10^6$ CD34⁺/kg do receptor, embora o grupo de Seattle já tenha utilizado um alvo maior do que 15×10^6 /kg (BENSINGER *et al.*, 1995). O EBMT analisou uma série de 59 doadores, estimulados com G-CSF, com doses variando de 4,5-24µg/kg/d, tendo sido coletada uma mediana de $6,47 \times 10^6$ /kg (1,44-68,8) de CD34⁺. Alguns pacientes receberam dose inferior a 2×10^6 /kg, sem nenhum efeito adverso na *pega* (SCHMITZ *et al.*, 1996 (C)). Assim, a dose mínima de células CD34⁺, para uma *pega* rápida e completa, ainda precisará ser definida em grandes estudos.

A dose de CD34⁺ foi associada com a recuperação hematopoética, a morbidade e a mortalidade relacionadas ao transplante, em pacientes recebendo transplante de MO, depletada em células T. A mortalidade relacionada ao tratamento, primariamente em razão de infecções e

citopenias, foi significativamente maior para os pacientes que receberam menos do que 1×10^6 /kg, do receptor. A sobrevida, numa mediana de seguimento de 1 ano, também foi mais baixa no grupo que recebeu este número de células. A dose de CD34⁺ correlacionou-se com a rapidez da recuperação hematopoética. Os que recebiam mais de 2×10^6 /kg, apresentavam recuperação significativamente mais precoce de monócitos, e uma tendência para os linfócitos. A independência de transfusão de hemácias e plaquetas era mais rápida, os pacientes necessitavam de menos fator estimulador de granulócitos como suporte, durante o tratamento com ganciclovir, e passavam menos dias no hospital, após o transplante (MAVROUDIS *et al.*, 1996). Em relação aos transplantes alogênicos com CPP, KORBLING *et al.* (1995) (A) e URBANO-ISPIZUA *et al.* (1996) não encontraram correlação entre a quantidade de células CD34⁺ com a cinética da *pega*. Por outro lado, BROWN *et al.* (1997) mostraram que pacientes que recebiam mais de 5×10^6 /kg apresentaram uma probabilidade de 95% de recuperação de neutrófilos e plaquetas, por volta do dia +15. MIFLIN *et al.* (1997) analisaram a influência do número de células CD34⁺ infundidas e a velocidade da *pega*. Utilizando-se vários *cutoffs*, descobriu-se que pacientes que recebiam um número superior a 4×10^6 /kg, tinham uma *pega* mais rápida. A mediana de dias para atingir a contagem absoluta de neutrófilos acima de $1,0 \times 10^9$ /l foi de 15 dias (10-27) e de plaquetas acima de 20×10^9 /l de 13 dias (9-42), comparado a 19 (11-30) e 20 dias (9-130), respectivamente, nos pacientes que recebiam valor abaixo de 4×10^6 /kg.

Finalmente, existe a preocupação de se analisar quais fatores estão associados à eficácia da mobilização, e a obtenção da dose alvo de CD34⁺ em doadores normais, para transplantes alogênicos. Os doadores receberam G-CSF na dose de 10-12ug/kg, duas vezes ao dia. Esta aplicação foi bem tolerada, resultou em um número maior de células CD34⁺ no produto da aférese, e os poucos efeitos colaterais apresentados foram controlados (WALLER *et al.*,

1996). A idade e sexo do doador parecem não afetar a mobilização (BROWN *et al.*, 1997). Entretanto, existem dados sugerindo que no sexo masculino a mobilização de células progenitoras pode ser mais eficiente que no feminino (MIFLIN *et al.*, 1996). Os níveis basais de progenitores circulantes e a dose total de G-CSF são outras características relacionadas à mobilização. Assim, doadores com número inferior a $2,0 \times 10^4$ células CD34⁺/ml de sangue periférico e com dose total baixa de G-CSF foram mobilizadores menos efetivos (BROWN *et al.*, 1997).

1.9. Resultados clínicos dos transplantes com CPP, utilizando doadores HLA idênticos

As experiências iniciais com os transplantes alogênicos, utilizando CPP, foram originalmente realizadas em pacientes com leucemias avançadas, ou situações em que o doador apresentava contra-indicação à anestesia geral, para colheita da MO. As evidências de vários relatos de transplantes alogênicos com CPP sugeriram, fortemente, como nos autólogos, que o tempo de *pega* é mais rápido quando comparado à MO (AZEVEDO *et al.*, 1995; BENSINGER *et al.*, 1995; KORBLING *et al.*, 1995 (B); RUSSEL *et al.*, 1995; SCHMITZ *et al.*, 1995).

Em um estudo envolvendo oito pacientes submetidos a transplante alogênico com CPP, para tratamento de leucemias avançadas, SCHMITZ *et al.* (1995) concluíram que o uso do metotrexato combinado à ciclosporina (CSP), como profilaxia para a DECH, atrasava a *pega* comparado aos pacientes que recebiam CSP sozinha. Neste mesmo estudo, a contagem de neutrófilos acima de $0,5 \times 10^9/l$ foi atingida numa mediana de 15,5 dias e a de plaquetas acima de $20 \times 10^9/l$ em 19,5 dias. Dados do EBMT, em uma série de 59 pacientes transplantados no ano de 1994, mostraram uma mediana de 15 dias para atingir contagem de neutrófilos superior a $0,5 \times$

$10^9/l$ e mediana de 16 e 18 dias para atingir contagem de plaquetas superior a 20 ou $50 \times 10^9/l$, respectivamente (SCHMITZ *et al.*, 1996). Resultados similares a estes foram relatados pelo grupo de Seattle (BENSINGER *et al.*, 1995). KORBLING *et al.* (1995) (A) utilizando CSP e prednisolona para profilaxia da DECH e G-CSF pós transplante, relataram uma mediana de recuperação de neutrófilos acima de $0,5 \times 10^9/l$ de 9 dias e de plaquetas acima de $20 \times 10^9/l$ de 12 dias. Neste estudo, a recuperação de neutrófilos foi comparável a um grupo controle histórico que também tinha recebido o mesmo esquema de profilaxia para a DECH e fator de crescimento pós transplante; entretanto, a recuperação de plaquetas foi significativamente mais rápida, após o transplante alogênico com CPP. Outros trabalhos também sugeriram que a *pega* é mais rápida com CPP do que com MO, em grupos-controles históricos (AZEVEDO *et al.*, 1995; RUSSEL *et al.*, 1995). BENSINGER *et al.* (1996) (A), transplantaram 37 pacientes com CPP obtidas de irmãos HLA idênticos. Os resultados foram comparados com um grupo histórico de 37 pacientes, com características similares, que receberam MO, também de irmãos HLA idênticos. A *pega*, medida pelo tempo para se atingir uma contagem de neutrófilos maior do que $0,5 \times 10^9/l$ e de plaquetas maior do que $20 \times 10^9/l$, ocorreu nos dias 14 e 11, nos pacientes transplantados com células do sangue periférico, comparada aos dias 16 e 15, nos pacientes que receberam MO ($P=.00063$ e $.00014$, respectivamente). Os pacientes do primeiro grupo necessitaram de uma mediana de 8 unidades de hemácias e 24 unidades de plaquetas, comparada a 17 e 118 unidades, respectivamente, no segundo grupo ($P=.0005$ e $.0001$). Eles sugeriram que os transplantes com CPP, com irmãos HLA idênticos, estavam associados a uma *pega* mais rápida e menos transfusões. BACIGALUPO *et al.* (1996) transplantaram 31 pacientes com doenças hematológicas avançadas, utilizando 28 doadores irmãos, genotipicamente idênticos, e 3 com um antígeno *mismatched*. A contagem de neutrófilos de $0,5 \times 10^9/l$ e de plaquetas de $30 \times 10^9/l$ foram

atingidos, ambos, no dia +14 (mediana). URBANO-ISPIZUA *et al.* (1996) transplantaram 33 pacientes, todos com doadores HLA idênticos. A profilaxia para DECH foi feita com CSP, CSP/esteróides ou CSP/metotrexato. Foram utilizados fatores de crescimento, pós transplante, em 11 pacientes (33%). A contagem de neutrófilos superior a $0,5 \times 10^9/l$ foi atingida no dia +14 (mediana) e de plaquetas superior a $20 \times 10^9/l$, também no dia +14 (mediana). O tempo de recuperação dos neutrófilos pareceu ser influenciado, fortemente, pelo uso do G-CSF pós transplante e, marginalmente, pelo tipo de profilaxia da DECH. MIFLIN *et al.* (1997) transplantaram 44 pacientes com doadores relacionados HLA idênticos e os tempos de *pega* de neutrófilos acima de $0,5 \times 10^9/l$ e de plaquetas acima de $20 \times 10^9/l$ foram absolutamente iguais aos descritos anteriormente.

No geral, estes resultados parecem indicar que a recuperação tanto dos neutrófilos, quanto das plaquetas, é mais rápida e, potencialmente, poderá haver uma redução da morbidade e mortalidade precoce associada com o aloenxerto. É provável que a cinética mais acelerada da *pega* leve a uma redução no uso de antibióticos e produtos hemoterápicos, além de reduzir o tempo de internação e os custos do procedimento (RUSSELL *et al.*, 1996).

Um outra questão em discussão é a duração, a longo prazo, do enxerto com CPP. Alguns trabalhos mostraram a persistência da hematopoese do doador, por diferentes maneiras, para além de 2 anos após a *pega* (BENSINGER *et al.*, 1995; SCHMITZ *et al.*, 1995). Não há relatos de falência tardia, confirmando as evidências da longevidade do enxerto com CPP, como já havia sido demonstrado há vários anos em transplantes experimentais, utilizando cães irradiados (CARBONELL *et al.*, 1984).

Os transplantes alogênicos, com CPP, podem acelerar a reconstituição imunológica. Entretanto, mais estudos são necessários para comprovar se a melhora da competência imune, *in vitro*, após estes tipos de transplantes, está associada a uma menor incidência de complicações infecciosas, *in vivo* (OTTINGER *et al.*, 1996).

1.10. Doença do enxerto contra hospedeiro

Uma das maiores preocupações com o uso do transplante alogênico, utilizando CPP, é a possibilidade de um aumento no risco da DECH, em razão da infusão de um grande número de linfócitos T, presentes no enxerto. Apesar desta preocupação, os primeiros relatos indicam que utilizando profilaxia com CSP e metotrexato, o procedimento pode ser realizado, sem aumento significativo da DECH (DREGER *et al.*, 1993; RUSSEL *et al.*, 1993). Estes resultados preliminares foram confirmados em outros estudos, com um número maior de pacientes. Dados do EBMT mostraram que, em 59 pacientes, a maioria com leucemias avançadas, a incidência de DECH aguda maior do que grau II foi de 24 % (SCHMITZ *et al.*, 1996 (A)); da mesma maneira, o grupo de Seattle relatou uma incidência de 16% de DECH aguda maior do que grau II, em um grupo similar de pacientes (BENSINGER *et al.*, 1995). Outros serviços também mostraram que a incidência de DECH aguda não aumentou (RUSSELL *et al.*, 1994; AZEVEDO *et al.*, 1995).

Não existe até o momento evidências de correlação entre a gravidade da DECH e o número de células T contidas nos enxertos com CPP não manipuladas, dado esse consistente com os enxertos de MO, não manipulada (JANSEN *et al.*, 1983; ATKINSON *et al.*, 1986).

De uma maneira geral, estes e outros resultados indicam que os regimes de profilaxia para DECH, mediante o uso de CSP, combinada tanto ao metotrexato quanto à prednisolona, são efetivos, apesar da quantidade maior de linfócitos T infundidos nos transplantes com CPP não manipuladas. A explicação para estes achados ainda não é clara, mas pode estar relacionada à presença de diferentes proporções de subpopulações de linfócitos T na colheita das CPP, quando comparada à MO. Alguns desses linfócitos, conforme discutido previamente, podem ser supressores da DECH (RUSSEL *et al.*, 1996).

Apesar da incidência da DECH aguda não sofrer aumento nos transplantes que se valeram de CPP, ainda existem dúvidas em relação a tal manifestação na sua forma crônica. MAJOLINO *et al.* (1996) transplantaram 8 pacientes, 7 HLA idênticos relacionados e um parcialmente idêntico, portadores de doenças hematológicas de alto risco. Seis destes pacientes evoluíram com DECH crônica extensa, sem nenhuma relação com a retirada da CSP. Esta alta incidência foi relacionada aos altos números de CD 3⁺. O grupo de Seattle comparou, retrospectivamente, a incidência de DECH crônica em 37 pacientes que receberam transplantes alogênicos com CPP com 37 que receberam MO, concluindo que os transplantes com CPP, mobilizadas com G-CSF, e não manipuladas, podem resultar em uma alta incidência de DECH crônica (STOREK *et al.*, 1997).

Como resultado das preocupações do aumento da DECH nos transplantes com CPP, alguns grupos de pesquisadores realizaram estudos de depleção de células T, *in vitro*, utilizando, predominantemente, a seleção de CD34⁺. Esta técnica foi relatada pela primeira vez em dois pacientes que apresentaram uma função inadequada do enxerto, seguindo um transplante de MO inicial (ARSENIEV *et al.*, 1994). O uso da seleção CD34⁺ pode levar a uma redução de 3-4 *log* de células CD3⁺ no produto da leucaférese (DREGER *et al.*, 1995; LINK *et al.*, 1996),

resultando na infusão de células T entre $2 \times 10^5/\text{Kg}$ e $10^6/\text{kg}$, com perda de células CD34^+ de aproximadamente 40-50%. BENSINGER *et al.* (1996) (B) transplantaram 16 pacientes, com mediana de idade de 48 anos, com CPP originadas de doadores HLA idênticos e seleção de CD34^+ . Uma mediana de $8,96 \times 10^6/\text{kg}$ de CD34^+ e $0,73 \times 10^6/\text{kg}$ de CD3^+ foram infundidas, após a seleção. A *pega* foi rápida na maioria dos casos. Entretanto, apesar do uso da CSP pós transplante, a DECH aguda e a crônica foram significativas. Resultados semelhantes foram obtidos por LINK *et al.* (1996) os quais também observaram um número significativo da DECH, quando era utilizada apenas CSP no pós-transplante, e uma menor ocorrência quando se associavam CSP e metotrexato. Não fica claro, por estes dados, que a seleção de CD34^+ ofereça alguma vantagem sobre os transplantes alogênicos com CPP, não manipulados.

Todos os benefícios teóricos da utilização das CPP em transplantes alogênicos devem ser agora avaliados por meio de estudos randomizados. Um estudo randomizado, utilizando transplante alogênico com MO e CPP, deverá responder a questões relacionadas à *pega* do enxerto, DECH aguda e crônica e diferenças nas recidivas e sobrevida.

Assim, baseado na experiência da literatura e na nossa própria experiência (AZEVEDO *et al.*, 1995), propusemos este estudo randomizado, comparando as diferenças entre os transplantes alogênicos com MO e CPP.

2. Objetivos

1. Avaliar e comparar a sobrevida global e sobrevida livre de doença nos grupos submetidos a transplante alogênico com MO e CPP.
2. Avaliar a incidência e a gravidade da DECH, aguda e crônica, comparando transplante alogênico de MO e CPP, conforme definido no Apêndice I e II.
3. Avaliar a incidência de recidivas nos grupos transplantados com MO e CPP.
4. Avaliar a cinética de pega do enxerto, comparando transplante alogênico com MO e CPP, pelos parâmetros do hemograma e pelo número de transfusões de concentrado de hemácias e plaquetas.

3. Casuística e Métodos

3.1. Seleção de pacientes

Este é um estudo randomizado, fase III, envolvendo 40 pacientes provenientes de uma única instituição (HC Unicamp), aprovado pelo seu Comitê de Ética Médica. O termo de consentimento informado foi obtido por parte de todos os receptores e doadores. Após a avaliação dos critérios de inclusão e exclusão dos pacientes e doadores, era realizada a randomização, valendo-nos de uma lista aleatória originada em computador. O início da randomização ocorreu em 23/02/1995 e o seu término deu-se em 16/10/97. Para análise dos dados foi estabelecido um mínimo de 100 dias de evolução após a realização do transplante.

Foram utilizados os seguintes critérios de inclusão e de exclusão na seleção de receptores:

3.1.1. Inclusões

- A. pacientes com leucemia linfoblástica (LLA), em primeira remissão (alto risco), ou em fases subsequentes; leucemia mieloblástica (LMA) em qualquer fase; síndromes mielodisplásicas (SMD); leucemia mielóide crônica (LMC), em fase crônica ou acelerada; mieloma múltiplo (MM); linfomas não Hodgkin (LNH) de intermediário e alto grau de malignidade e linfoma de Hodgkin (LH), ambos em primeira ou subsequentes recidivas.
- B. pacientes com idade ≤ 60 anos.

3.1.2. Exclusões

- A. pacientes com idade > 60 anos de idade.
- B. pacientes que apresentassem sorologia positiva para HIV.
- C. Pacientes grávidas.
- D. pacientes com uma depuração de creatinina < 50 mg/dl, fração de ejeção do ventrículo esquerdo < 45%, provas de função pulmonar < 60% do previsto.
- E. pacientes com uma expectativa de vida gravemente limitada por outras doenças, além da doença de base.
- F. pacientes com história de mais de 20 Gy de irradiação no sistema nervoso central ou no tórax.

3.2. Seleção de Doador

Os doadores de CPP foram submetidos a um rigoroso exame clínico e a uma extensa avaliação laboratorial para se garantir o máximo de segurança durante os procedimentos de mobilização e de colheita de CPP. Os seguintes critérios de inclusão e exclusão foram utilizados na seleção dos doadores:

3.2.1. Inclusões

- A. irmão HLA-idêntico nos locus A, B, DR e cultura mista de linfócitos negativa.
- B. consentimento para a administração de G-CSF.
- C. disponibilidade do doador para colheita de MO caso não ocorresse a *pega* da medula com CPP ou vice versa.
- D. doador com acesso venoso periférico adequado para a realização da aférese.

3.2.2. Exclusões

- A. doadores em potencial que psicologicamente e fisiologicamente, ou por razões médicas, fossem incapazes de tolerar a colheita de CPP ou de MO.
- B. doador com sorologia positiva para hepatite A, B ou C, HTLV, HIV, doença de Chagas e sífilis.
- C. doadoras femininas com teste de gravidez positivo.
- D. doadores com menos de 40 kg de peso corporal.
- E. acesso venoso periférico inadequado.
- F. doador com antecedente de doença hematológica ou problemas orgânicos, que contra-indicassem o uso de rhG-CSF ou a realização de aférese.

3.3. Monitorização clínica de doadores e receptores

Os pacientes e doadores tiveram os seus parâmetros clínicos anotados e classificados de acordo com as rotinas do serviço (apêndices III, IV, V, VI, VII).

3.4. Plano de tratamento

Os pacientes neste estudo foram tratados de acordo com os protocolos ativos do serviço de transplante de medula óssea do Hemocentro/HC UNICAMP quanto ao condicionamento, profilaxia para DECH, profilaxia para infecções, tratamento de suporte e cuidados gerais.

3.5. Condicionamento

Os pacientes receberam, como condicionamento, ciclofosfamida (CY) 120 mg/kg em 2 doses diárias e bussulfano (BU) 16 mg/kg fracionado em 16 doses, de acordo com o protocolo descrito por Tutscka *et al.* (1987) e em alguns casos (neoplasias de origem linfóide) associou-se etoposide (VP-16) 40 mg/kg, como definido na tabela abaixo:

Tabela 1: Condicionamento

<i>Dia</i>	<i>Medicamento/Dose</i>
-7	Bu (4 mg/kg)
-6	Bu (4 mg/kg)
-5	Bu (4 mg/kg)
-4	Bu (4 mg/kg)
-3	CY 60 mg/kg (+/- VP-16 - 20 mg/kg)
-2	CY 60 mg/kg (+/- VP-16 - 20 mg/kg)
-1	Repouso
0	MO ou CPP colheita & infusão
0	MO ou CPP colheita & infusão, se necessário

Também foi disponível para o condicionamento a utilização de irradiação corporal total hiperfracionada (13,2 Gy) associada à ciclofosfamida na dose total de 120 mg/kg.

3.6. Profilaxia de Sistem Nervoso Central (SNC)

Os pacientes com LLA receberam 2 doses de metotrexato intratecal, antes do transplante, e a partir do dia +32 uma dose a cada 2 semanas, até completar um total de 6 doses.

3.7. *Profilaxia e tratamento da DECH*

A DECH aguda foi classificada e estadiada de acordo com os critérios propostos por GLUCKSBERG *et al.* (1974) (apêndice I). Todos os pacientes receberam profilaxia da DECH com CSP na dose de 3 mg/kg/dia EV dividida em duas tomadas a partir do dia -1, associada ao metotrexato na dose de 15 mg/m² EV no dia +1 e 10 mg/m² EV nos dias +3, +6 e +11, *resgatado* com ácido folínico. A administração da CSP foi feita por via oral na dose de 12,5 mg/kg/dia dividida em duas tomadas diárias tão logo os pacientes fossem capazes de tolerar a medicação oral. No dia +50 era iniciada a redução a equivalente a 5%/semana estendida até o dia + 180. (SULLIVAN, 1994) (tabela 2).

Tabela 2: Profilaxia da DECH aguda

<i>Dia</i>	<i>Ciclosporina</i>	<i>Metotrexato</i>
-1	3 mg/kg/dia EV	-
0	“	-
+1	“	15 mg/m ² EV dose única
+2	“	ácido folínico
+3	“	10 mg/m ² EV dose única
+4	“	ácido folínico
+5	“	ácido folínico
+6	“	10 mg/m ² EV dose única
+7	“	ácido folínico
+8	“	ácido folínico
+9	“	-
+10	“	-
+11	“	10 mg/m ² EV dose única
+12	“	ácido folínico
+13	“	ácido folínico
+50	início da redução 5%/sem	
+180	suspensão	

Nas neoplasias linfóides a profilaxia utilizada foi CSP associada à metilprednisolona. A dose de CSP era de 5 mg/kg/d EV contínuo em 24 hs, do dia -1 ao +3; 3 mg/kg/d EV em 6 hs, do dia +4 ao +14; 12,5 mg/kg/d VO dividida em duas tomadas a partir do dia +15, se fosse possível a utilização de medicação oral. A redução era iniciada no dia +50 e estendida até o dia +180. A dose

de metilprednisolona era de 0.5 mg/kg/d EV do dia +7 ao +13; 1 mg/kg/ d EV do dia +14 ao +28, após o que iniciava-se a redução até o dia +72 (SULLIVAN, 1994).

Os pacientes que necessitaram de tratamento para a DECH aguda receberam inicialmente metilprednisolona de acordo com o protocolo do serviço. A dose inicial era de 2 mg/kg/d EV até o controle do quadro. Após este período, a medicação era reduzida para 1mg/kg/d e mantida por 1 mês. A partir de então era reduzido 5%/semana. A CSP começava a ser reduzida quando o corticóide se encontrava em 20% da dose inicial. Os pacientes que não responderam ao tratamento receberam globulina antitimocítica (SULLIVAN, 1994).

A DECH crônica foi estadiada de acordo com os critérios de SHULMAN *et al.* (1980) (Apêndice II).

Os pacientes que desenvolveram DECH crônica foram tratados com corticosteróides e CSP, de acordo com o protocolo do serviço. O tratamento utilizava um esquema em que se alternavam os dias utilizados da CSP (12mg/kg em 2 tomadas) com a prednisona (1mg/kg), conforme mostrado na tabela 3. Estas doses eram reduzidas lentamente em 3-6 meses, dependendo da resposta do paciente (SULLIVAN, 1994).

Tabela 3: Tratamento da DECH crônica

<i>Semana</i>	<i>Prednisona</i> <i>mg/Kg/dia (VO)</i>		<i>Ciclosporina</i> <i>mg/Kg/dia (VO)</i>	
	<i>Dia A</i>	<i>Dia B</i>	<i>Dia A</i>	<i>Dia B</i>
1	1.0	1.0	12.0	12.0
2	1.0	1.0	0	12.0
3	1.0	0.50	0	12.0
4	1.0	0.25	0	12.0
5	1.0	0.12	0	12.0
6	1.0	0.06	0	12.0
7	1.0	0	0	12.0
8	1.0	0	0	12.0
↓	1.0	0	0	12.0
20	1.0	0	0	12.0
21	0.75	0	0	12.0
22	0.50	0	0	12.0
↓	0.50	0	0	12.0
40	0.50	0	0	12.0

A= dia par, B= dia ímpar

3.8. Tratamento de suporte

3.8.1. Profilaxia e tratamento das infecções

- A. todos os pacientes foram tratados em quartos individuais, equipados com filtros tipo *HEPA filter*, e em regime de isolamento protetor simples.

- B. todos os pacientes receberam fluconazol 200 mg/dia como profilaxia para infecções fúngicas.
- C. Sempre que o número de granulócitos caísse abaixo de $0,5 \times 10^9/L$, os pacientes recebiam ceftazidima 6 g/dia EV, como profilaxia de infecções bacterianas. As infecções bacterianas, quando ocorriam, eram tratadas de acordo com as indicações específicas para cada caso em questão.
- D. O Ganciclovir foi administrado a partir do dia +35 na dose de 5 mg/kg/d três vezes por semana até o dia +75, como profilaxia para infecções por citomegalovírus.
- E. Após a alta hospitalar, os pacientes também recebiam duas vezes por semana sulfametoxazol-trimetoprim na dose de 800 mg/160 mg respectivamente, como profilaxia de infecções por *Pneumocystis carinii*.

3.8.2. Profilaxia e tratamento das complicações hemorrágicas, transfusão de plaquetas e de hemácias

- A. Os pacientes recebiam transfusões profiláticas de plaquetas somente quando o número de plaquetas fosse inferior a $20 \times 10^9/L$, e/ou apresentavam hemorragias evidentes, ou se necessitassem ser submetidos a procedimentos invasivos.
- B. Os concentrados de hemácias eram transfundidos sempre que os níveis de hemoglobina fossem menores que 8 g/dl.

3.8.3. Suporte nutricional

Todos os pacientes recebiam nutrição parenteral total (NPT), sempre que a ingestão de alimentos diminuísse de modo significativo, abaixo das necessidades diárias. A monitorização nutricional foi realizada por uma nutricionista especializada e os pacientes foram alimentados de acordo com as rotinas do serviço. Utilizaram-se formas de alimentação pobre em bactérias, os complementos alimentares industrializados para uso oral e a nutrição parenteral total com aminoácidos, carboidratos, eletrólitos, polivitamínicos e lípidos.

3.9. Critérios utilizados para a definição de pega e falência do enxerto

A pega dos neutrófilos foi definida como o 1º dia, de dois consecutivos, com um número absoluto maior ou igual a $0,5 \times 10^9/l$. A pega de plaquetas foi definida como o 1º dia com um número maior ou igual a $20 \times 10^9/l$ e mantido por uma semana sem transfusões.

A falência do enxerto foi definida como um número de neutrófilos inferior a $0,5 \times 10^9/l$ no dia + 28; $0,1 \times 10^9/l$ no dia + 21, quando acompanhado de infecção com risco de vida, ou se ocorresse queda do número de células abaixo de $0,5 \times 10^9/l$, mantido por, pelo menos, 1 semana após ter havido critério de pega previamente (NEMUNAITIS *et al.*, 1990).

3.9.1. Utilização de fatores de crescimento hematopoiéticos pós-transplante

Os pacientes incluídos no estudo não foram qualificados para receber fatores de crescimento. No entanto, no caso de ser caracterizada a falência do enxerto, tal uso seria considerado.

3.10. Coleta de Medula Óssea

Os doadores foram submetidos à anestesia geral e a múltiplas aspirações de MO, proveniente das cristas ilíacas posteriores e/ou anteriores, quando necessárias. A MO aspirada era misturada a uma solução contendo heparina e um meio nutriente para cultura de células (RPMI). O volume aproximado coletado era estimado em 10 a 15 ml/kg de peso do receptor (ARMITAGE, 1994). Posteriormente, era submetida a uma filtração mecânica por meio de malha metálica, para a retirada de partículas ósseas, coágulos e tecido adiposo e transferida para uma ou mais bolsas plásticas de transfusão.

3.11. Infusão da Medula Óssea

A infusão da MO foi realizada imediatamente após a colheita, sem modificação, por meio de cateter venoso central do tipo *Hickman*, previamente introduzido no receptor.

O número de células nucleadas alvo para infusão deveria estar entre $1,0$ e $3,0 \times 10^8$ células/kg de peso do receptor.

Nos casos de incompatibilidade maior ou menor de grupos sanguíneos A, B, O, e Rh entre o paciente e o doador, foram realizados os procedimentos indicados para evitar-se o risco de reação transfusional (depleção de plasma ou de hemácias no produto, e/ou plasmaferese no receptor).

Os receptores receberam, como rotina, pré-medicação com difenilhidramina na dose de 50 mg/EV antes da infusão.

A infusão da medula óssea foi realizada com equipos sem filtros, em um período de uma a duas horas, sob supervisão médica e com os cuidados universalmente utilizados nas transfusões.

3.12. Mobilização e coleta das CPP

3.12.1. Mobilização das CPP por rhG-CSF

Todos os doadores receberam cinco doses de rhG-CSF (Granulokine®, Roche, São Paulo, Brasil) 10 µg/kg/dia, em dias consecutivos, no início da manhã do dia -4 até o dia 0, dia da primeira sessão de aférese. O acetaminofen, na dose de 500 mg para uso até de 6/6 h, foi utilizado em todos os doadores em casos de cefaléia, mialgia, dores ósseas ou outros sintomas constitucionais.

3.12.2. Coleta de CPP por aférese

3.12.2.1. Materiais e técnica:

- equipamento: separadora celular por fluxo contínuo Dideco Vivacel mod BT-798 CE/A (Mirandola, Itália).
- insumos utilizados em cada sessão de aférese:
 - Anticoagulante ACD: 3 a 5 frascos de 500 ml;
 - Kit referência BT 460F-405 para citaférese;
 - 2 a 3 bolsas simples de coleta de sangue secas de 600 ml;
 - 1 frasco de soro fisiológico de 500 ml;
 - 1 frasco de soro fisiológico de 250 ml;
- A execução do procedimento de aférese foi realizada por biólogos, assessorados por médicos do Serviço de Hemoterapia do Hemocentro/UNICAMP, e seguiu as recomendações de operação do fabricante do equipamento para este tipo de procedimento.
- Foi estabelecida apenas uma sessão de aférese, tentando-se colher um número mínimo de células mononucleares de $2,0 \times 10^8/\text{kg}$ peso do receptor, considerada a dose mínima de segurança nos transplantes autólogos (CIAVARELLA, 1991; BENDER *et al.*, 1992).

3.13. Infusão de CPP

Os pacientes receberam as CPP não-modificadas, logo após a coleta, por intermédio de cateter central do tipo *Hickman*. Se o doador tivesse anticorpos contra os antígenos eritrocitários ABO ou Rh do receptor com títulos > 1:128, o produto da aférese tinha o plasma depletado imediatamente antes da infusão.

A infusão de CPP foi sempre realizada sob supervisão médica, durando de uma a duas horas e com os cuidados universalmente utilizados nas transfusões.

3.14. Controles Laboratoriais

- Pré-aférese: hemograma, plaquetas, cálcio.
- bolsas: hemograma, plaquetas, CD34+ (imunofenotipagem)
- Pós aférese: hemograma, plaquetas, cálcio.
- As contagens de células e de plaquetas foram realizadas por analisador hematológico automático ABBOTT - Cell-Dyn®, modelo 1.600 (Unipath, Mountain View Ca-USA).
- Nestas amostras não foram realizadas as contagens diferenciais de leucócitos por observador humano.
- Amostras para hemocultura foram enviadas ao Laboratório de Microbiologia para controle de possível contaminação.
- Quantificação de células CD34, CD4, CD8 e CD3 positivas: A análise de células CD34, CD3, CD4, CD8 foram realizados por citometria de fluxo. As amostras de

sangue periférico ou de MO foram diluídas para obtenção de 5×10^6 células e incubadas em tubos falcon durante ½ hora em câmara escura, contendo cada um os anticorpos monoclonais específicos. A marcação com os anticorpos monoclonais foi realizada da seguinte maneira: no tubo-controle adicionou-se anticorpo monoclonal CD14 conjugado a FITC (Becton & Dickinson, San Jose, CA, EUA) simultaneamente com o anticorpo controle IgG1 conjugado a PE (Becton & Dickinson). No tubo CD34 adicionou-se anticorpo monoclonal CD14/FITC e anticorpo monoclonal CD34 HPCA2/PE. O mesmo procedimento foi realizado para a análise de células CD3, CD4 e CD8 positivas, usando-se o controle isotípico IgG2 e os respectivos anticorpos monoclonais CD3-FITC/CD4-PE; CD3-FITC/CD8-PE; CD4-FITC/CD8-PE (Becton & Dickinson). Após a incubação, foi adicionada solução tampão lisante de células vermelhas em cada tubo, os quais foram deixados à temperatura ambiente por 15'. As células então foram lavadas 2 vezes com tampão PBS em centrífuga Beckman (Palo Alto, CA, EUA) a 1800 rpm por 10'. As células foram ressuspensas em solução tampão de PBS e analisadas no citômetro de fluxo, modelo FACscalibur (Becton & Dickinson). A compensação do aparelho foi realizada com *calibration beads* (Becton & Dickinson). Os dados foram coletados utilizando-se os parâmetros dispersão frontal (forward scatter - FSC) em escala linear, dispersão 90° (*side scatter* - SSC), também em escala linear e fluorescência FL-1/FITC e FL-2/PE em escala logarítmica (MASSUMOTO *et al.*, 1997).

3.15. *Análise estatística*

As análises foram baseadas no *status* da doença em 13/02/1998. Nosso principal objetivo foi comparar a sobrevida global e então comparar as respostas objetivas, a sobrevida livre de doença e a toxicidade. A sobrevida global em ambos os grupos foi medida a partir da data da randomização até a data da morte ou da última avaliação. A sobrevida livre de doença foi aplicada somente para os pacientes que conseguiram remissão completa. A duração foi calculada a partir do momento em que foi atingida a remissão completa, após o transplante, (pega da medula sem evidência da doença de base) até a data da recidiva ou da última avaliação, comprovada sem nenhuma atividade da doença. Todos os dados foram analisados por métodos estatísticos descritivos. A probabilidade de eventos (recuperação de neutrófilos e plaquetas, DECH-a e DECH-c), além das curvas de sobrevida, foram estimadas de acordo com o método de *Kaplan e Meier*. Os grupos foram comparados pelo *log-rank-test*, ou *Breslow's Test*, usando o *software SPSS 7,5*, versão para *Windows/95*. As proporções das características clínicas dos pacientes, em cada grupo, foram comparadas mediante o uso do *Fisher's test*. Além do mais, as comparações das variáveis contínuas foram realizadas pelo *Mann Whitney test*. Todos os valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

4. Resultados

4.1. Pacientes

Dos quarenta pacientes randomizados, 19 completaram a sequência terapêutica no grupo que recebeu MO (grupo A) e 18 no grupo que recebeu CPP (grupo B). Um paciente no grupo A foi não elegível porque o doador não era HLA idêntico. No grupo B, 2 foram não elegíveis, um por ser portador de doença não-neoplásica e outro por refutar o tratamento.

A mediana de idade no grupo (A) foi de 35 anos (17 - 56) e no B de 29,5 (9 - 51) ($P= 0,17$). A proporção entre pacientes do sexo masculino e feminino, em ambos os grupos, foi de 15:4 e 12:6, respectivamente (Tabela 4). Os grupos foram aparentemente homogêneos, isto é, não apresentaram diferenças em relação às doenças de base e os períodos evolutivos para a realização do transplante (Tabela 4). O condicionamento com BuCY2 foi utilizado em 16 pacientes no grupo A e em 17 no grupo B. O Bu/CY2/VP16 em 3 pacientes no grupo A e o TBI/CY2 em apenas 1 paciente no grupo B. A profilaxia da DECH foi realizada com MTX/CsA em 16 e 18 pacientes nos grupos A e B, respectivamente. A profilaxia com Pred/Csa foi utilizada em 3 pacientes, no grupo A (Tabela 4).

Tabela 4: Características dos pacientes, doadores e tratamento

	<i>MO</i>	<i>CPP</i>
Nº. pacientes	19	18
Idade, mediana		
Pacientes	35 (17 - 56)	29.5 (9 - 51)
Doadores	32 (12 - 60)	30 (14 - 60)
Sexo pacientes	M = 15 F = 4	M = 12 F = 6
Sexo doadores	M → M = 7 M → F = 2 F → M = 8 F → F = 2	M → M = 4 M → F = 1 F → M = 8 F → F = 5
Doença inicial		
(LMC, 1ª FC; LMA, 1ª RC; LMA, 1ª rec; LLA, 1ª RC; SMD-AR)	13	13
Doença avançada		
(LMC, FA/CB; LMA >1ª rec; LMA, MM, LNH refratários; LLA >2ª RC; SMD-AREB)	6	5
Regime mieloablativo		
Bu (16)/Cy (120)	16	17
Bu (16)/Cy (120)/VP-16 (40)	3	-
CY (120)/ICT (13,2 Gy)	-	1
Profilaxia DECH		
CSP/MTX	16	18
CSP/Pred	3	-
Vivos	10	10
Mortos	9	8
Seguimento (dias)	631 (281 - 1044)	335 (120 - 1079)

4.2. Mobilização e coleta das células progenitoras periféricas alogênicas

A mediana de idade dos doadores do grupo A foi de 32 anos (12-60) e do grupo B, de 30 anos (14-60). Oito doadores do sexo feminino doaram para receptores do sexo masculino, nos dois grupos. (Tabela 4)

Em geral, o rhG-CSF foi bem tolerado pelos doadores, com efeitos colaterais leves. Sete de 17 doadores avaliados (41%) foram assintomáticos; 8/17 (47%), queixaram-se de dor óssea e 2/17 (12%), apresentaram cefaléia. Nenhum caso necessitou de redução ou suspensão da administração da citocina. Oito doadores, com pelo menos mais de um ano após a estimulação com o fator de crescimento, foram reavaliados hematologicamente, em uma mediana de 832 dias (459-1062). Em nenhum deles foram notadas alterações no hemograma.

Dois doadores realizaram duas aférese por não terem atingido o número de células mononucleares pré-determinadas. Em todos os outros doadores foi realizada apenas uma sessão de aférese. Também não foi necessária a coleta de MO como enriquecimento do produto de aférese em nenhum caso. Não houve complicação grave relacionada à colheita em nenhum doador.

Foi processada nas máquinas de aférese uma mediana de 12043 L de sangue (9.400L – 28.500L). A mediana de leucócitos no 5º dia do uso do rhG-CSF e pré aférese foi de $31,75 \times 10^9/l$ (12,3 - 62,50); a mediana do hematócrito foi de 41% (34,8 - 50,4); a mediana do número de plaquetas foi de $239,5 \times 10^9/l$ (149 - 369). Após o término da aférese, a mediana de leucócitos foi de $36,05 \times 10^9/l$ (14,7 - 67,7) ($P = 0,20$); hematócrito de 39,5% (28,7 - 49,7) ($P = 0,06$); de plaquetas de $119 \times 10^9/l$ (58 - 217) ($P < 0,0001$). Sete de 18 doadores (38,8%)

apresentaram plaquetopenia inferior a $100 \times 10^9/l$. Nenhum deles apresentou complicações hemorrágicas (Tabela 5).

Tabela 5: Características da coleta de CPP

<i>Volume processado F2043 E (9400 – 28500)</i>			
	<i>5º dia do G-CSF</i>	<i>Pós-aferese (M)</i>	<i>P</i>
	<i>e pré aferese (M)</i>		
Leucócitos ($\times 10^9/l$)	31,75 (12,3 – 62,5)	36,05 (14,7 – 67,7)	0,20
Hematócrito (%)	41 (34,8 – 50,4)	39,5 (28,7 – 49,7)	0,06
Plaquetas ($10^9/l$)	239,5 (149 – 369)	119 (58 – 217)	< 0,0001

4.3. Característica do enxerto

Foi analisado o número de células nucleadas totais; o número de células mononucleares totais e o número de células de subpopulações linfocitárias (CD3, CD3/CD4, CD3/CD8 e CD34) em cada grupo.

No grupo A, a medula óssea dos doadores continha uma mediana de células nucleadas totais de $2,56 \times 10^8/kg$ do receptor (1,54 - 3,41); mediana de células mononucleares totais de $1,13 \times 10^8/kg$ do receptor (0,62 - 1,94); mediana de CD3⁺ de $75,66 \times 10^6/kg$ do receptor (26,37 - 157,27); mediana de CD3⁺/CD4⁺ de $39,25 \times 10^6/kg$ do receptor (10,99 - 64,32); mediana

de $CD3^+/CD8^+$ de $27,96 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor (9,9 - 97,48) e mediana de $CD34^+$ de $5,26 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor (1,19 - 17,55). Em todos os doadores foi atingido o número de células nucleadas-alvo determinado ($1,0 - 3,0 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor). No grupo B, o produto da leucoaférese, com exceção do número de $CD34^+$, continha um número sempre superior às medianas de todas as células analisadas e cuja diferença se mostrou significativa. A mediana de células nucleadas totais foi de $5,51 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor (2,20 - 21,02) ($P < 0,0001$); mediana de células mononucleares totais foi de $3,20 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor (2,0 - 5,41) ($P < 0,0001$); mediana de $CD3^+$ foi de $317,00 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor (160,67 - 644,75) ($P < 0,0001$); mediana de $CD3^+/CD4^+$ foi de $154,52 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor (23,6 - 412,15) ($P < 0,0001$); mediana de $CD3^+/CD8^+$ foi de 97,36 (45,75 - 217,53) ($P < 0,0001$). A mediana de $CD34^+$ foi de $4,71 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor (1,26 - 71,61) ($P = 0,40$) (Tabela 6). O número de células mononucleares alvo de $2,0 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor foi atingido em todos os doadores. Em 9 de 18 pacientes, o número de $CD34^+$ foi inferior a $4,0 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor. Em 2 de 18 pacientes (11,1%) o número de $CD34^+$ foi inferior a $2,0 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor. Em um destes pacientes a *pega* de granulócitos foi no dia +19 e plaquetas no dia +23. O outro paciente apresentou *pega* de granulócitos no dia +22 e a *pega* de plaquetas não foi avaliada porque o paciente evoluiu para óbito antes da *pega*.

Tabela 6: Características do enxerto

	<i>MO (M)</i>	<i>CPP (M)</i>	<i>P</i>
Células nucleadas/kg (10^5)	2,56 (1,54 – 3,41)	5,51 (2,20 – 21,02)	< 0,0001
Células mononucleadas/kg (10^5)	1,13 (0,62 – 1,94)	3,20 (2,0 – 5,41)	<0,0001
CD34 ⁺ /Kg(10^6)	5,26 (1,19 – 17,55)	4,71 (1,26 – 71,61)	0,40
CD3 ⁺ /Kg(10^6)	75,66 (26,37 – 157,27)	317,00 (160,67 – 644,75)	<0,0001
CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /Kg (10^6)	39,25 (10,99 – 64,32)	154,52 (23,60 – 412,15)	<0,0001
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /Kg(10^6)	27,96 (9,90 – 97,48)	97,36 (45,75 – 217, 53)	<0,0001

M = mediana

4.4. Recuperação hematológica

No grupo A, a mediana do dia para se atingir o número absoluto de neutrófilos superior a $0,5 \times 10^9/l$ por dois dias consecutivos foi +18 (13-30) e de plaquetas superior a $20 \times 10^9/l$, sem transfusão por uma semana, foi +17 (10-40). No grupo B, +16 (11 - 25) e +12 (9-36), respectivamente, para neutrófilos e plaquetas. A *pega* de plaquetas foi significativamente mais rápida no grupo que recebeu CPP ($P = 0,01$). Entretanto, apesar da recuperação dos neutrófilos ter sido mais rápida no grupo B, esta diferença não foi significativa ($P = 0,15$). (Tabela 7, Figuras 1 e 2).

Tabela 7: Comparação dos parâmetros clínicos e laboratoriais dos pacientes

	<i>MO (M)</i>	<i>CPP (M)</i>	<i>P</i>
Dia NAN > 0,5 x 10 ⁹ /l	+18(13 - 30)	+16 (11 - 25)	0,15*
Dia plaquetas > 20 x 10 ⁹ /l	+17 (10 - 40)	+12 (9 - 36)	0,01*
Nº. unidades plaquetas transfundidas	18 (1 - 341)	13 (4 - 44)	0,32
Nº unidades de CH transfundidos	5 (1 - 75)	4 (2 - 12)	0,20
Dia de alta	+26 (18 - 48)	+21 (18 - 42)	0,08
Antibióticos (dias)	19 (8 - 41)	16,5 (9 - 32)	0,21
Anfotericina B (dose total mg))	568,75 (187 - 750)	362,50 (105 - 825)	0,41
Bilirrubina (mg/dL)	1,6 (0,7 - 12,2)	1,6 (0,9 - 8,3)	0,32
Creatinina (mg/dL)	1,28 (0,62 - 5,7)	1,20 (0,79 - 3,84)	0,14
NPP (dias)	11 (0 - 33)	9 (0 - 36)	0,16

NAN = Número absoluto de neutrófilos; CH = concentrado de hemácias

* *Breslow's test*

Figura 1: Probabilidade de NAN $0,5 \times 10^9/l$

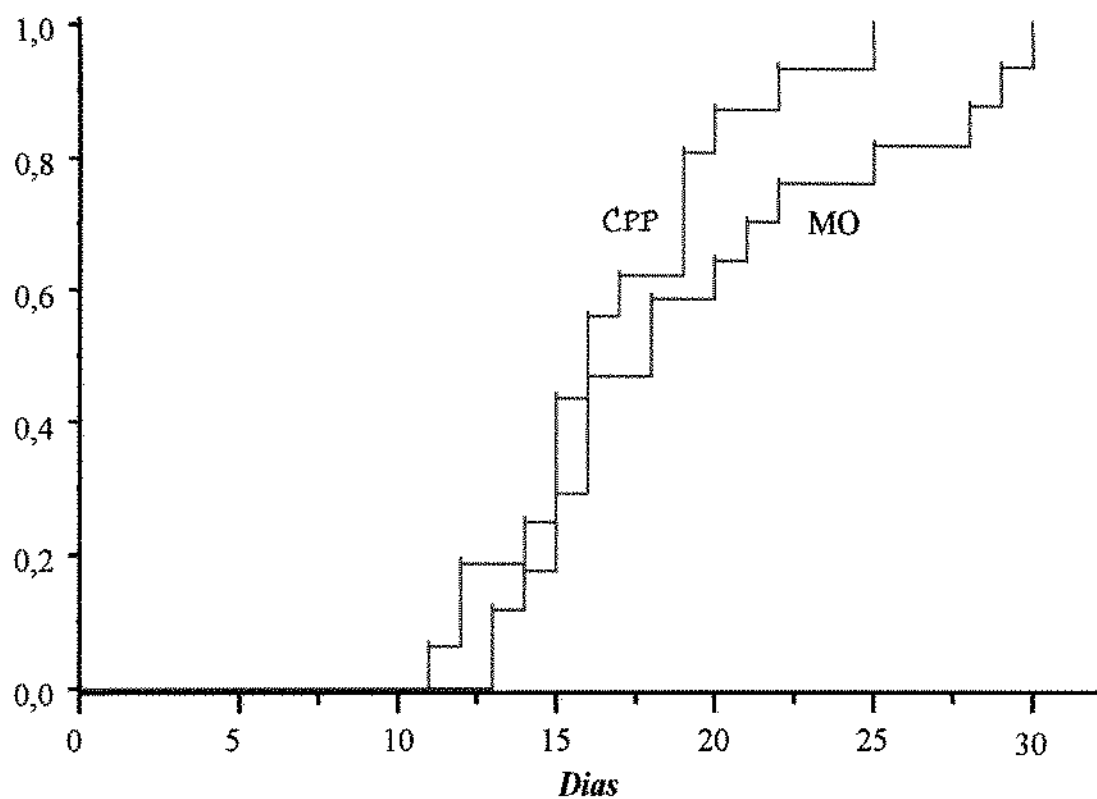
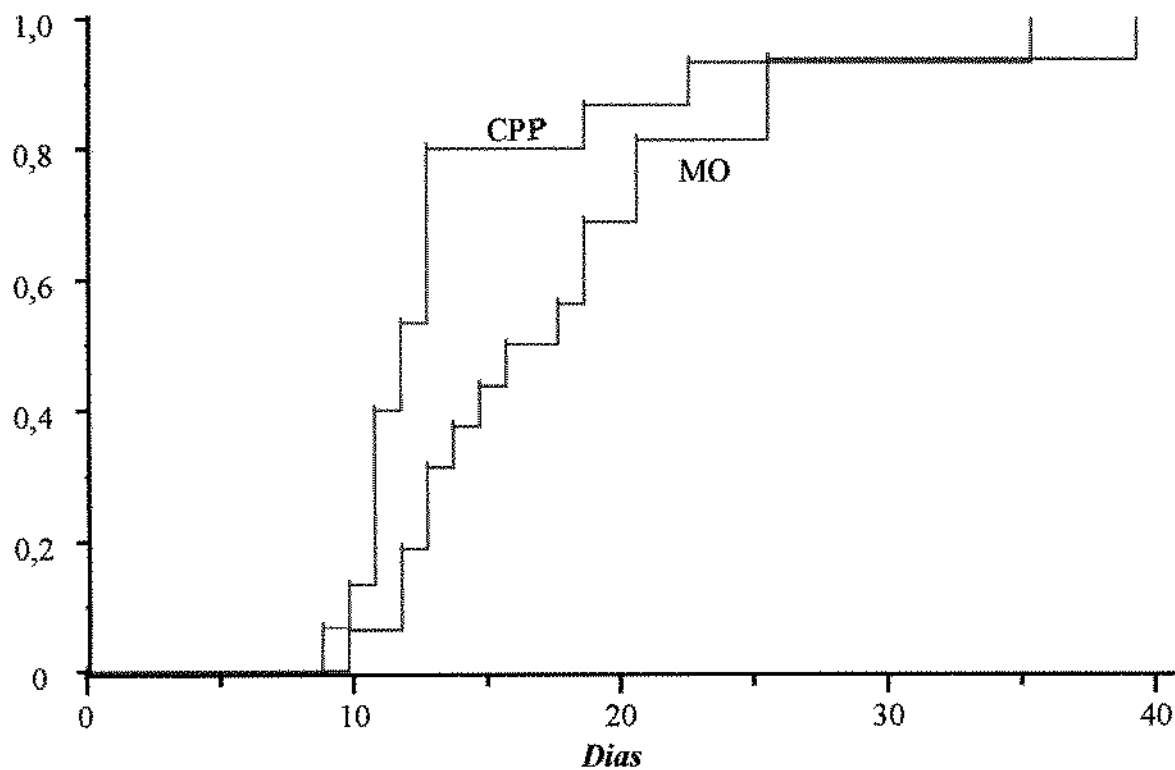


Figura 2: Probabilidade de $20 \times 10^9/l$



A mediana do número de concentrados de hemácias que foram transfundidos no grupo A foi de 5 (1-75) e de plaquetas, unitárias e/ou aféreses foi de 18 (1-341). No grupo B, a mediana de hemácias e plaquetas foi de 4 (2-12) e de 13 (4-44), respectivamente. Estas diferenças não foram significativas, apesar do menor número de transfusão de plaquetas no grupo B ($P = 0,20$ e $P = 0,32$, respectivamente para hemácias e plaquetas). (Tabela 7).

Em relação à utilização de antibióticos, não houve diferença significativa entre o número de dias utilizados nos dois grupos. A mediana para o grupo A foi de 19 dias (8-41), e para o B 16,5 (9-32) ($P = 0,21$). O mesmo aconteceu para a dose total de anfotericina B. A mediana para o grupo A foi de 568,75 mg (187-750) e para o B 362,50 mg (105-825) ($P = 0,41$). Os pacientes do grupo B apresentaram uma tendência estatística para receberem alta hospitalar mais cedo. A mediana do dia de alta para o grupo A foi de 26 dias (18-48), e para o grupo B 21 (18-42) ($P = 0,08$). (Tabela 7):

Quando comparamos a morbidade dos dois tipos de transplante utilizando os níveis séricos máximos de bilirrubinas, creatinina e dias de NPP, não notamos nenhuma diferença entre os dois grupos. A mediana de bilirrubina no grupo A foi de 1,6 mg/dL (0,7-12,2), e no B 1,6 mg/dL (0,9-8,3) ($P = 0,32$). A mediana da creatinina foi de 1,28 mg/dL (0,62-5,7) e 1,20 mg/dL (0,79- 3,84), respectivamente, nos grupos A e B ($P = 0,14$). Quanto à utilização de NPP a mediana de dias para o grupo A foi de 11 (0-33), e, para o grupo B, 9 (0- 36) ($P = 0,16$).

De acordo com os critérios de toxicidade WHO, no grupo A um paciente apresentou elevação de TGO/TGP grau 4 e seis, grau 3; um paciente apresentou elevação de bilirrubinas grau 4 e dois, grau 3. Quanto à toxicidade renal, um paciente apresentou elevação de creatinina grau 3; um paciente hematúria, grau 4. No grupo B, 3 pacientes apresentaram elevação de TGO/TGP

grau 4 e cinco, grau 3. Em relação aos níveis de bilirrubinas, três casos apresentaram elevação grau 3. Em relação à toxicidade renal, um paciente apresentou elevação de creatinina grau 2; não houve caso de hematúria neste grupo.

4.5. DECH aguda e crônica

Dezesseis pacientes foram avaliados quanto ao aparecimento de DECH aguda no grupo A; 3 em 16 pacientes (18,7%) apresentaram graus 2-4, e 2 em 3, apresentaram graus 3-4. No grupo B, 15 pacientes foram avaliados: 4 em 15 pacientes (26,6%) apresentaram graus 2-4, e 2 em 4, apresentaram graus 3-4. Não houve diferença significativa ($P = 0,40$). (Tabela 8). A probabilidade de DECH-a graus 2-4 foi de 19% no grupo A e de 27% no grupo B ($P = 0,53$) (Figura 3).

Quinze pacientes foram avaliados no grupo A, quanto à incidência de DECH crônica. O total afetado (incluindo as formas localizadas e extensas) ocorreu em 8 de 15 pacientes (53,3%). No grupo B, 14 pacientes foram avaliados. O total afetado foi de 10 em 14 pacientes (71,4%) ($P = 0,53$) (Tabela 8). Apesar do pequeno número de casos avaliados no grupo B, nossos dados sugerem que a grande maioria dos pacientes evoluirão com DECH-c, ao passo que, com relação aos pacientes transplantados com MO, a probabilidade será de 70% ($P = 0,08$) (Figura 4). A forma localizada ocorreu em 4 dentre 8 (50%) pacientes e a extensa, em 4 dentre 8 (50%) pacientes no grupo A. No grupo B, todos os pacientes avaliáveis apresentaram a forma extensa (100%) ($P = 0,02$) (Tabela 8). No grupo A, 6 dentre 8 pacientes (75%) afetados apresentaram DECH crônica *de novo*; 1 em 8 (12,5%), progressiva; e 1 em 8 (12,5%), quiescente. No grupo B,

6 dentre 10 pacientes (60%) afetados apresentaram DECH crônica *de novo* ($P = 0,40$); 4 dentre 10, quiescente (40%) ($P = 0,20$). Neste grupo não houve nenhum caso progressivo. O envolvimento dos vários órgãos e/ou tecidos com clínica de DECH crônica está demonstrado na tabela 9. Não houve diferença de acometimento entre os dois grupos, com exceção de uma frequência maior de comprometimento de mucosa oral no grupo B ($P = 0,03$). No grupo A, todas as formas localizadas caracterizaram-se por comprometimento do fígado, e nos extensos houve em 1, dentre 4 casos (25%), comprometimento de mucosa oral e fígado; em 1, dentre 4 casos (25%), comprometimento de pele com característica liquenóide associado ao fígado e à mucosa oral; em 1, dentre 4 casos (25%), comprometimento de mucosa oral, fígado e olhos; e em 1, dentre 4 (25%), comprometimento hepático associado ao pulmão (bronquiolite obliterante). No grupo B, a forma extensa ficou caracterizada em 5 de 10 casos (50%) por comprometimento da mucosa oral e do fígado ($P = 0,40$); em 3 (30%) por comprometimento de olho, fígado e mucosa oral ($P = 0,60$); em 1 (10%) por comprometimento de pele com característica liquenóide associado o fígado, mucosa oral e olhos; e em 1 (10%) comprometimento de pele com característica liquenóide associado ao fígado e aos olhos. Dois pacientes no grupo B, após o término do tratamento, necessitaram de reintrodução do tratamento por reatividade da DECH crônica.

Tabela 8: Incidência de DECH aguda e crônica

	<i>MO</i>	<i>CPP</i>	<i>P</i>
DECH-a avaliáveis	16	15	
Grau 2 – 4	3/16 (18,7%)	4/15 (26,6%)	0,40
Grau 3 – 4	2/3	2/4	
DECH-c avaliáveis	15	14	
Total afetados	8/15 (53,3%)	10/14 (71,4%)	0,53
Extenso	4/8 (50%)	10/10 (100%)	0,02
Limitado	4/8 (50%)	0	0,02

Tabela 9: Órgãos/ou tecidos envolvidos com clínica de DECH-c entre os pacientes

	<i>MO</i>	<i>CPP</i>	<i>P</i>
Pele	1 (12,5%)	2 (20%)	0,50
Fígado	8 (100%)	10 (100%)	-
Olhos	1 (12,5%)	5 (50%)	0,10
Mucosa oral	3 (37,5%)	9 (90%)	0,03
Pulmão	1 (12,5%)	0	0,40

Figura 3: Probabilidade de DECH-a - graus 2 - 4

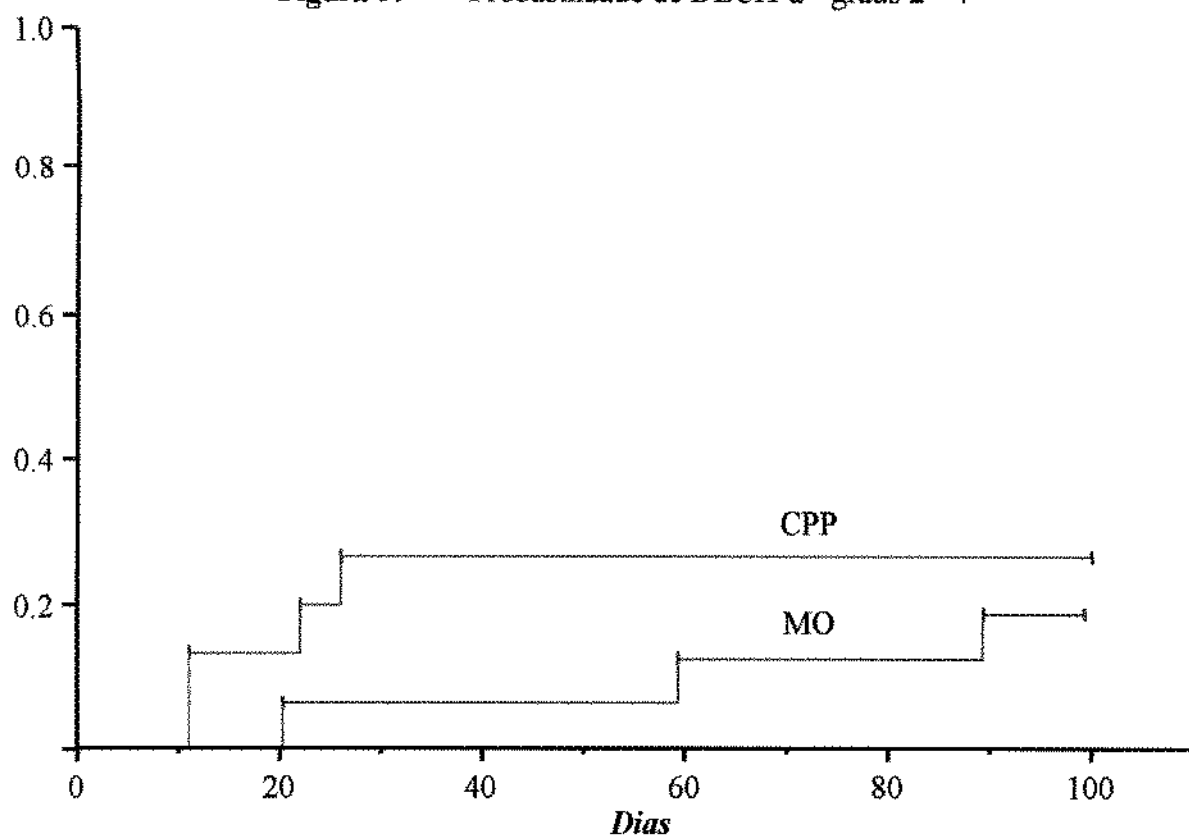
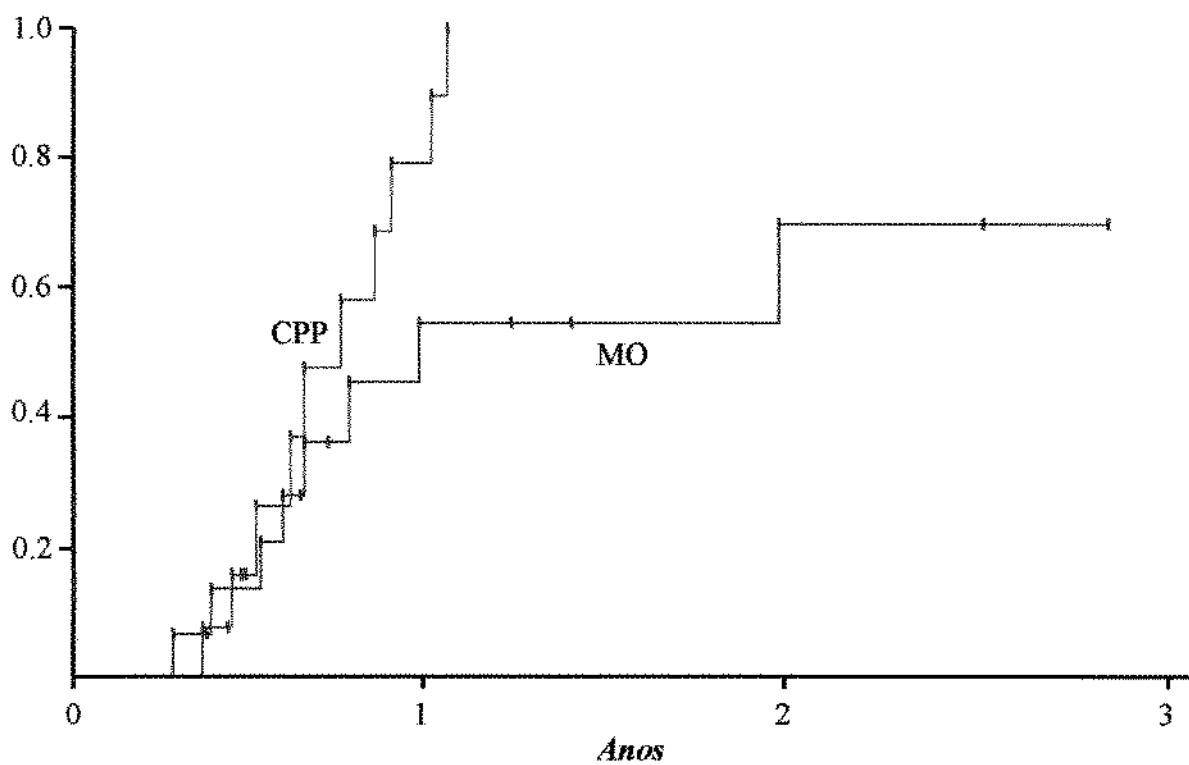


Figura 4: Probabilidade de DECH-c total



4.6. *Falência do enxerto*

Não houve nenhuma falência primária no grupo que recebeu o transplante com CPP. No grupo da MO, um paciente apresentou falência primária do enxerto. Trata-se de um paciente de 17 anos, sexo masculino, doador do sexo feminino, diagnóstico de LMC em primeira fase crônica condicionado com bussulfano e ciclofosfamida. Recebeu profilaxia da DECH crônica com metotrexato e ciclosporina. O enxerto apresentava um total de células nucleares de $1,65 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor, total de células mononucleares de $0,75 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor, CD3^+ de $91,92 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor, $\text{CD3}^+/\text{CD4}^+$ de $48,73 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor, $\text{CD3}^+/\text{CD8}^+$ $29,08 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor e CD 34^+ de $5,09 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor. O paciente recebeu inicialmente fator de crescimento de granulócitos (G-CSF) sem resposta. Foi, então, tratado com infusão de CPP mobilizadas com G-CSF provenientes do doador original e sem novo condicionamento. O total de células nucleadas infundidas foi de $3,80 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor, total de células mononucleares de $2,62 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor, CD3^+ de $283 \times 10^6/\text{kg}$ do receptor, $\text{CD3}^+/\text{CD4}^+$ de $214 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor, $\text{CD3}^+/\text{CD8}^+$ $82 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor e CD 34^+ de $6,78 \times 10^8/\text{kg}$ do receptor. A *pega* dos neutrófilos ocorreu no dia +24 e das plaquetas no dia + 28. O paciente não teve DECH aguda, mas desenvolveu uma DECH crônica extensa no dia +348 com comprometimento de pele com aspecto liquenóide, boca e fígado. O paciente está vivo e bem, em tratamento com CSP e prednisona.

4.7. Recidivas

No grupo A, 2 dentre 19 pacientes recidivaram (10,5%), e não houve caso de progressão precoce da doença de base. No grupo B, 3 dentre 18 pacientes (16,6%) recidivaram e/ou progrediram precocemente.

4.8. Causas de morte

No grupo A, 9 de 19 pacientes (47,3%) foram a óbito. Dois pacientes (22,2%), por recidiva da doença de base e sete (77,8%), por complicações associadas ao transplante. Um paciente (11,1%) faleceu por DECH aguda; dois (22,2%), por DECH crônica; um (11,1%) por infecção bacteriana; um (11,1%) por CMV; um (11,1%) por doença veno oclusiva hepática (VOD); e um (11,1%) por cistite hemorrágica. No grupo B, 8 dentre 18 (44,4%) pacientes foram a óbito ($P = 0,90$); houve um caso por progressão precoce (12,5%); 2 casos por recidiva (25%) e cinco (62,5%) associados a complicações do transplante ($P = 0,40$). Um paciente (12,5%) faleceu por DECH aguda; dois (25%), por DECH crônica; e dois (25%), por infecção bacteriana (Tabela 10).

Tabela 10: Causas de óbito

	<i>MO</i>	<i>CPP</i>
Progressão precoce	0	1 (12,5%)
Recidiva	2 (22,2%)	2 (25%)
Relacionado ao transplante		
DECH-a	1 (11,1%)	1 (12,5%)
DECH-c	2 (22,2%)	2 (25%)
Infecção		
Bacteriana	1 (11,1%)	2 (25%)
CMV	1 (11,1%)	-
VOD	1 (11,1%)	-
Cistite hemorrágica	1 (11,1%)	-
Total	9 (47,3%)	8 (44,4%)

4.9. Sobrevida

Numa mediana de acompanhamento de 631 dias (281-1044) para o grupo A e de 335 dias (120-1079) para o grupo B, 10 dentre 19 (52,6%) e 10 dentre 18 pacientes (55,5%) estão vivos, respectivamente, em cada grupo. A probabilidade de sobrevida global para o grupo A e B em 1000 dias foi de 51% e 47%, respectivamente ($P=0,67$). A probabilidade de sobrevida livre de doença para o grupo A e B em 1000 dias foi de 52% e 58%, respectivamente ($P = 0,50$) (Figuras 5 e 6).

Figura 5: Sobrevida global

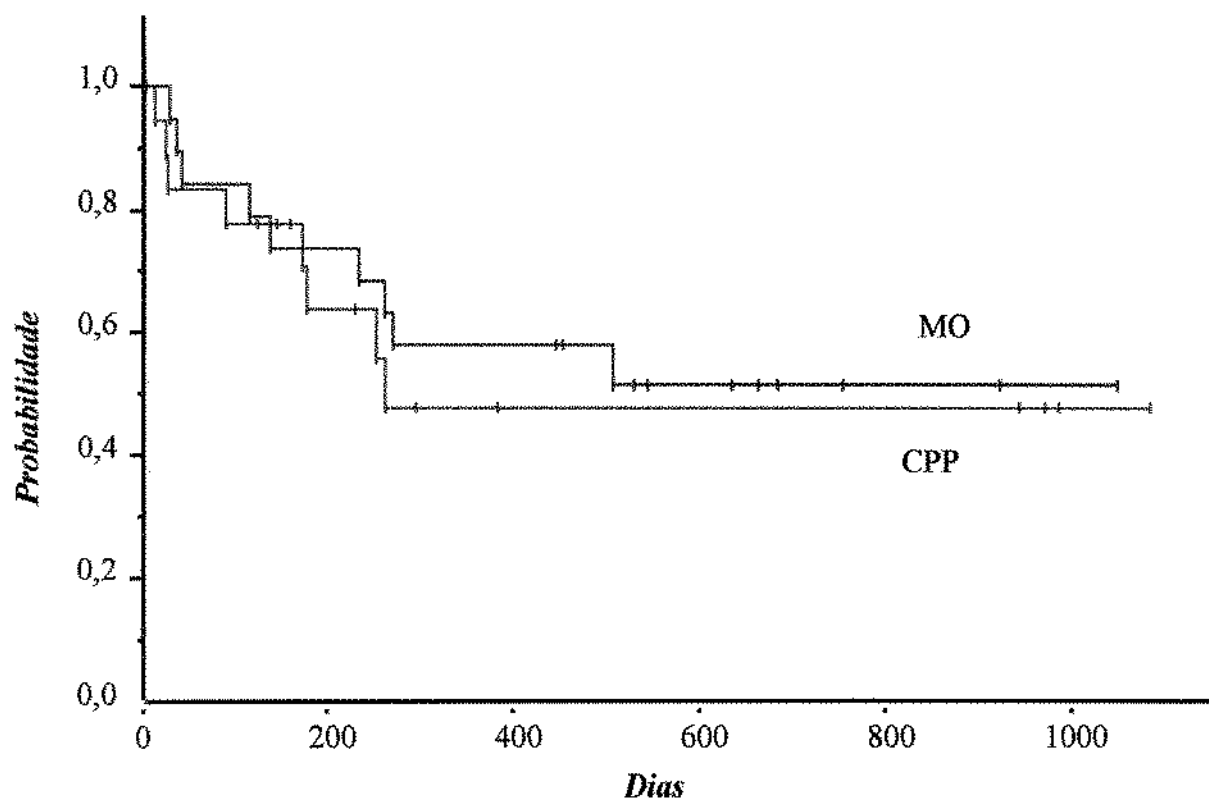
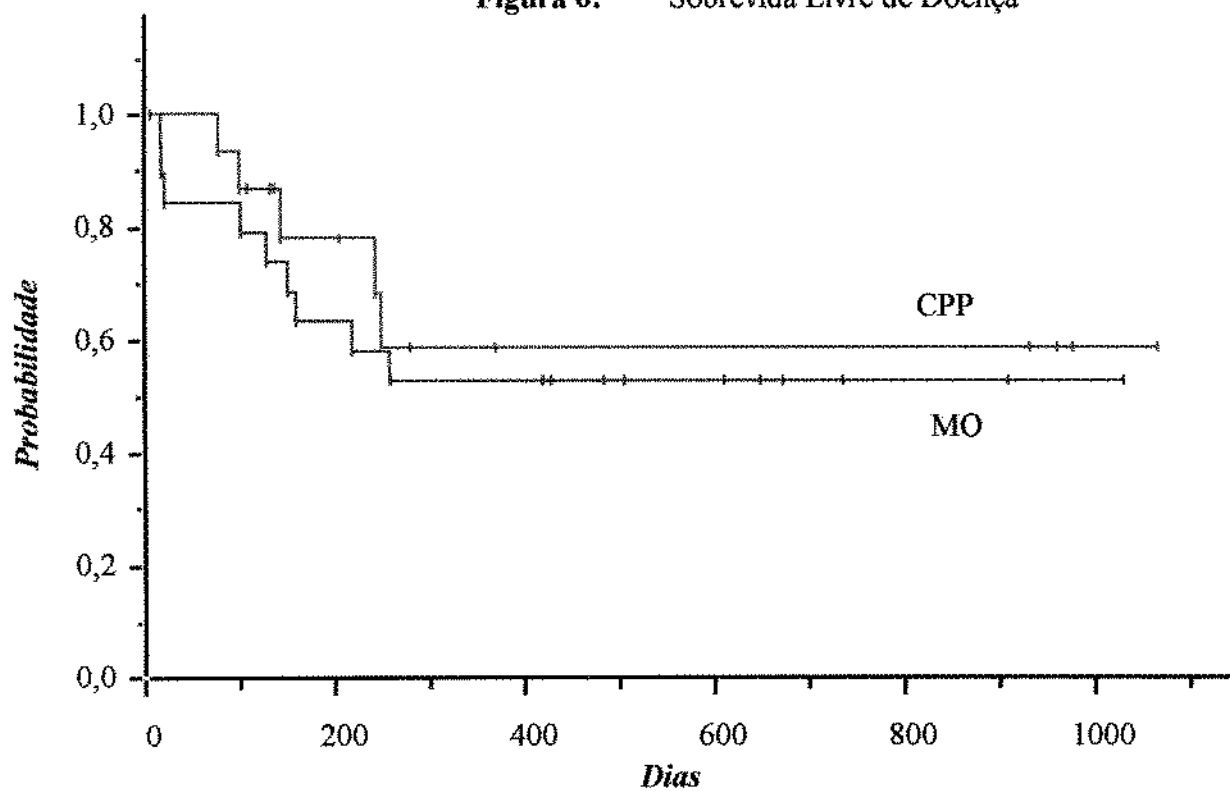


Figura 6: Sobrevida Livre de Doença



5. Discussão

Este estudo foi idealizado e conduzido tomando-se por base um projeto-piloto realizado em nosso serviço em 1994, o qual valeu-se de transplantes alogênicos com CPP em um grupo de pacientes com doenças hematológicas malignas, e cujo principal objetivo foi verificar a factibilidade e toxicidade deste método que, à época, era ainda experimental no campo dos transplantes alogênicos. Aquele estudo buscava estabelecer as possíveis diferenças em relação à incidência e à gravidade da DECH aguda, à estabilidade do enxerto e à cinética do procedimento. Os resultados preliminares mostraram que os transplantes realizados com CPP apresentavam *pega* rápida do enxerto, internações mais curtas, menor necessidade de antibióticos, sem o aumento da incidência e gravidade da DECH aguda (AZEVEDO *et al.*, 1995). Os dados atuais obtidos por este estudo randomizado e prospectivo, no qual a comparação pode ser feita de maneira controlada, mostraram que os resultados dos transplantes alogênicos relacionados, tendo por doadores irmãos HLA idênticos e utilizando CPP mobilizadas com G-CSF, parecem confirmar os nossos dados preliminares e aqueles obtidos por outros autores (BESINGER *et al.*, 1995, 1996; KORBLING *et al.*, 1995 (B); RUSSELL *et al.*, 1995). Vale dizer, ambas as técnicas apresentam características terapêuticas semelhantes, apesar de apresentarem algumas diferenças biológicas. A primeira observação importante foi que a *pega* do enxerto foi similar para ambos os grupos, exceto para a recuperação de plaquetas, a qual é mais rápida no grupo que utilizou CPP. Apesar de não significativo do ponto de vista estatístico, o número de transfusões foi menor e a alta hospitalar foi mais precoce no grupo que recebeu CPP. Além disso, a toxicidade relacionada aos procedimentos não foi diferente.

A recuperação hematopoética pode ser influenciada por vários fatores como estes: a disparidade da tipagem do sistema HLA entre o receptor e o doador, a *qualidade* do enxerto

estabelecido pelo número de precursores hematopoéticos e de células linfocitárias T, a DECH aguda, bem como algumas complicações precoces características dos transplantes alogênicos como as infecções virais e a doença veno oclusiva hepática (SCHMITZ *et al.*, 1995). A terapêutica profilática da DECH também pode influenciar na cinética e na eficiência do transplante. O uso de metotrexato como profilaxia para DECH tem sido relacionado ao atraso da reconstituição hematopoética tanto nos transplantes com CPP quanto com MO (CHAO *et al.*, 1993; SCHMITZ *et al.*, 1995). Nós utilizamos o metotrexato na maioria dos nossos pacientes. Apesar disto, a recuperação do número de neutrófilos e de plaquetas parece não ter sido influenciado por tal farmaco.

A recuperação de neutrófilos deu-se dois dias antes no grupo das CPP comparado ao grupo que recebeu MO. Esta diferença, porém, não foi significativa. Entretanto, a recuperação de plaquetas foi mais curta em cinco dias nos pacientes que receberam CPP. Este dado foi estatisticamente significativo ($P= 0.01$). Nossos dados de recuperação hematológica não diferem dos dados internacionais obtidos com a utilização do metotrexato ou sem sua utilização. URBANO-ISPIZUA *et al.* (1996) também demonstraram que a utilização do metotrexato nos transplantes alogênicos com CPP, em pacientes que não recebiam G-CSF no pós-transplante, não influenciava a velocidade de recuperação dos granulócitos além de $0.5 \times 10^9/l$. A recuperação de plaquetas acima de $20 \times 10^9/l$ foi atrasada numa mediana de 2 dias, mas não influenciou no tempo para se atingir uma contagem de plaquetas superior a $50 \times 10^9/l$. Estes dados sugerem que a utilização do metotrexato não atrasa substancialmente a *pega* hematopoética nos transplantes alogênicos com CPP.

Dados recentes indicam que as CPP apresentam uma capacidade intrínseca para reconstituir o número de neutrófilos mais rapidamente do que a MO. Esta característica não está relacionada apenas ao número de colônias CFU-GM infundidas (SCOTT *et al.*, 1997). As CPP, diferentemente dos precursores obtidos diretamente da MO, não sofrem atraso de proliferação causado pela presença de células estromais da MO (SCOTT *et al.*, 1997), células estas que parecem interferir reduzindo a entrada das células progenitoras no ciclo celular (GORDON *et al.*, 1996). Outra característica é que as células progenitoras periféricas produzem preferencialmente mais colônias CFU-GM em detrimento das BFU-E (SCOTT *et al.*, 1997). A utilização do rhG-CSF, por si, não afeta a recuperação das plaquetas após os transplantes alogênicos ou autólogos. Entretanto, esta citocina parece aumentar o número de progenitores de megacariócitos circulantes nos doadores de CPP (DUHRSEN *et al.*, 1988). Este dado foi associado a uma recuperação de plaquetas mais rápida nos receptores de transplantes autólogos com CPP estimuladas com G-CSF (SHERIDAN *et al.*, 1992).

Outro aspecto de grande relevância é que não observamos qualquer caso de falência primária no grupo transplantado com CPP. Por outro lado, um caso no grupo que recebeu MO apresentou falência primária. Nós concluímos, nesse caso, que o regime de condicionamento empregado no transplante de MO havia sido suficiente para uma adequada imunossupressão do receptor o que, possivelmente, facilitaria a *pega* das células do doador em uma nova tentativa de infusão. O paciente foi tratado, então, com infusão de CPP, mobilizadas com G-CSF do mesmo doador original, sem novo condicionamento. Nesse caso, houve posterior *pega* do enxerto.

A falência de *pega* do enxerto pode ser devida a diversos fatores. Assim, um número insuficiente ou lesão das células precursoras hematopoéticas, dano ao microambiente medular, as

infecções (CMV, parvovirus, EBV, hepatite), mecanismos auto-imunes e tratamento medicamentoso pós transplante (ganciclovir, metotrexato) podem estar associados à falha de *pega*. O tratamento desta grave situação médica pode ser realizado com a utilização de fatores de crescimento ou mesmo com uma nova infusão como *reforço (booster)* (DEEG, 1996). Este caso ilustra e demonstra que os transplantes alogênicos com CPP podem ser úteis mesmo em situações em que ocorre falência de infusão da MO. Provavelmente, as células T presentes em grande número nas CPP podem, em adição, facilitar a *pega* (DREGER *et al.*, 1993).

Nenhum caso de falência tardia foi por nós observado, no grupo de CPP, em uma mediana de acompanhamento de 335 dias. MOLINEUX *et al.* (1990) foram os primeiros a demonstrar, em animais, que as CPP mobilizadas com G-CSF eram capazes de reconstituir a hemopoese por longo tempo. Em humanos, vários trabalhos recentes relatam uma *pega* hematopoética completa e sustentada após transplantes com CPP mobilizadas com G-CSF, fornecendo evidências que células progenitoras pluripotenciais precoces com capacidade de auto-renovação sustentada estão presentes no alo-enxerto periférico (BENSINGER *et al.*, 1995; KORBLING *et al.*, 1995 (A) (B); SCHMITZ *et al.*, 1995).

A introdução dos transplantes alogênicos com CPP fez surgir duas grandes discussões: uma, quanto à aceitação do doador e os possíveis riscos relacionados à mobilização e ao procedimento automático de coleta das CPP e a outra, relacionada à qualidade do produto celular obtido e aos eventos precoces e tardios no período pós-transplante (BACIGALUPO *et al.*, 1996). Assim, devem ser consideradas algumas variáveis de risco ao doador na realização de transplantes alogênicos com CPP: o uso de cateteres venosos centrais em doadores normais, a dose do G-CSF

utilizado na mobilização, o número de dias de tratamento com o fator de crescimento, o dia e a melhor hora em que deve ser iniciada a leucaférese e o número total de leucaféreses (BACIGALUPO *et al.*, 1996). Neste estudo nós não utilizamos cateteres venosos centrais. A dose de G-CSF utilizada foi de 10 µg/kg/peso por 5 dias e foi realizada apenas uma aférese com um volume mediano processado de 12 litros, no quinto dia de utilização de G-CSF. Este protocolo foi bem tolerado pelos doadores. Entretanto, com esta padronização nós obtivemos uma mediana de células CD34⁺ de 4,7 x 10⁶/kg/receptor (1,26 - 71,6), inferior àquela conseguida com a da MO, isto é, 5,26 (1,19 - 17,55). Este dado chamou a nossa atenção já que o número esperado de células CD34⁺ pode ser até 5 vezes maior nas CPP do que as encontradas na MO (AVERSA *et al.*, 1994; DREGER *et al.*, 1994; BENSINGER *et al.*, 1995; KORBLING *et al.*, 1995 (A) (B)). BENSINGER *et al.* (1995) utilizando uma dose de G-CSF de 16 µg/kg/dia e duas leucaféreses coletaram uma mediana de 13,1 x 10⁶ CD34⁺/kg/receptor. KORBLING *et al.* (1995) (A) usaram 12 µg/kg/dia em doses divididas e conseguiram uma mediana de 11,7 x 10⁶ CD34⁺/kg/receptor também com uma mediana de duas aféreses. DREGER *et al.* (1994) com 10 µg/kg/dia, por cinco dias, coletaram uma mediana de 6,6 x 10⁶/kg/receptor de células CD34⁺, realizando entre uma a três leucaféreses em dias consecutivos. MIFLIN *et al.* (1996) utilizando dose semelhante e com a primeira leucaférese ocorrendo no 5º dia e com uma mediana de duas leucaféreses, obtiveram uma mediana de 6,80 x 10⁶ CD34⁺/kg/receptor; MIFLIN *et al.* (1997) utilizaram o mesmo protocolo em 86% dos doadores em que foi colhida uma mediana de 5,75 x 10⁶CD34⁺/kg/receptor com uma mediana de duas leucaféreses. Por outro lado, GRIGG *et al.* (1995) numa tentativa de definir o melhor regime de mobilização utilizaram voluntários sadios estimulados com G-CSF 10 µg/kg/dia por cinco dias e fez uma única aférese de 7 litros no dia 6. A mediana de CD34⁺ x 10⁶ /kg/receptor foi de 4,6 (2 - 10,6). Com todos estes dados, nós podemos sugerir que o nosso protocolo de

mobilização deve ser aperfeiçoado no sentido de elevar o número de células CD34⁺ conferindo, assim, maior segurança ao transplante de CPP. Entretanto, apesar do menor número mediano de células CD34⁺ coletadas, todos os pacientes no grupo das CPP tiveram *pega* adequada, inclusive, com recuperação mais rápida para os números de plaquetas, além de, uma tendência de recuperação mais rápida para os granulócitos. As possíveis causas deste número inferior de células CD34⁺ aos obtidos na literatura podem estar relacionadas ao tipo de células-alvo de controle do produto de aféreses que adotamos no início do estudo, isto é, as células mononucleares, ao número insuficiente (apenas uma) de aféreses e na realização do procedimento de coleta muito próximo à última dose de rhG-CSF, no 5º dia. A determinação do número de CD34⁺ deve ser associado às células mononucleares para o controle do produto de aféreses. O número mediano de aférese deve ser estabelecido com base no número de células CD34⁺, e possivelmente deverá ser de duas aféreses, como na maioria dos estudos internacionais. Além disso, estudos demonstraram que o aumento máximo de progenitores ocorre 6 horas após a última dose do G-CSF e se mantém até 30 horas (SATO *et al.*, 1994), assim, nossas aféreses deverão respeitar este intervalo pós-rhG-CSF.

O número ideal de células CD34⁺ necessárias para uma *pega* hematopoética rápida nos transplantes alogênicos periféricos ainda não está completamente estabelecido. BROWN *et al.* (1997) mostraram que pacientes que recebiam mais do que 5×10^6 CD34⁺/kg apresentaram uma probabilidade de 95% de recuperação de neutrófilos e plaquetas por volta do dia +15. MIFLIN *et al.* (1997) utilizando vários *cutoffs* descobriram que pacientes que recebiam mais de 4×10^6 CD34⁺/kg tinham uma *pega* mais rápida. No nosso estudo dois pacientes do grupo das CPP receberam uma quantidade inferior a $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/kg. Ambos *pegaram*, porém em tempos superiores às medianas. Em um paciente, os neutrófilos *pegaram* no dia +22 e as plaquetas não

foram avaliadas em razão do óbito precoce; no outro, os neutrófilos *pegaram* no dia +19 e as plaquetas no +23.

Em relação aos doadores, a maior preocupação está relacionada à administração de fatores de crescimento. O rhG-CSF vem sendo usado há vários anos, em um grande número de doadores, com poucos efeitos colaterais como dor óssea, cefaléia. Raramente tem-se observado predisposição a trombozes (BACIGALUPO *et al.*, 1996).

Em nosso estudo, o rhG-CSF foi bem tolerado pelos doadores, com efeitos colaterais leves. A dor óssea foi a queixa mais freqüente (47%) tendo sido controlada em todos os casos com paracetamol, cefaléia ocorreu em 12% dos doadores e, o restante (41%), foi assintomático. Nenhum caso necessitou de redução ou suspensão da citoquina. Um outro cuidado foi a não utilização de cateteres venosos centrais por seu potencial de risco e complicações. Não tivemos também nenhuma complicação com o procedimento da aférese. Oito doadores foram reavaliados com mais de um ano (mediana de 832 dias), após a utilização do fator de crescimento. Todos apresentaram hemogramas normais e estavam clinicamente sadios. Existe uma preocupação em relação à utilização de rhG-CSF em doadores normais quanto ao aparecimento de alterações hematológicas, incluindo possível transformação leucêmica (HASENCLEVER & SEXTRO, 1996). Apesar do procedimento da colheita de CPP ser seguro, uma única aférese em grande volume, ou várias com volumes variados, estão associadas a um risco de plaquetopenia pela remoção mecânica das plaquetas para o produto coletado. Plaquetopenias inferiores a $100 \times 10^9/l$ foram descritas, porém, sem repercussão clínica (BENSINGER *et al.*, 1993; DREGER *et al.*, 1994; AZEVEDO *et al.*, 1995; MAJOLINO *et al.*, 1995 (B); BACIGALUPO *et al.*, 1996; BANDARENKO *et al.*, 1996; HARADA *et al.*, 1996; KORBLING *et al.*, 1996; MARTINEZ *et*

al., 1996; OKAMOTO *et al.*, 1996; URBANO-ISPIZUA *et al.*, 1996; WALLER *et al.*, 1996). Não se pode descartar também o mecanismo de ação direta do rhG-CSF ou a supressão da trombopoese secundária à expansão da granulopoese (LINDEMANN *et al.*, 1989; BENSINGER *et al.*, 1993; OKAMOTO *et al.*, 1996). Todos os nossos doadores apresentaram uma diminuição do número de plaquetas quando comparadas ao período pré aférese. Sete em 18 doadores (38,8%) apresentaram plaquetopenia abaixo de $100 \times 10^9/l$, mas nenhum acompanhado de complicações hemorrágicas.

Uma das maiores preocupações do transplante alogênico com CPP está associado à possibilidade de um aumento da DECH secundária à infusão de um grande número de linfócitos T presentes no enxerto. KORBLING *et al.* (1995) (A) demonstraram que, embora o número de CD3⁺ nos alo-enxertos periféricos excedessem os da MO em 16,1 vezes, não houve diferença significativa da DECH aguda em comparação aos transplantes com MO. Não existem dados clínicos e/ou experimentais que mostrem uma correlação entre a ocorrência de DECH aguda e o número de células T tanto em transplantes com MO quanto em CPP (ATKINSON *et al.*, 1986; JANSEN *et al.*, 1983; SCHMITZ *et al.*, 1995). A incidência relativamente baixa da DECH aguda nos receptores de CPP alogênicas, apesar da grande quantidade de células T no enxerto, pode ser atribuída a: 1) uma diferenciação preferencial de células T *helper*, induzida pelo rhG-CSF, em T_{H2} mais do que T_{H1}, resultando em enxertos com células T_{H1} relativamente baixas, implicadas na patogênese da DECH aguda (PAN *et al.*, 1995); 2) o grande número de monócitos nos enxertos de CPP (mais de 2 logs comparado à MO) que suprimem as células T (INO *et al.*, 1997). Tanto a polarização T_{H1} → T_{H2} pode enfraquecer, quanto os monócitos imunossupressores podem morrer nos primeiros meses após os transplantes (STOREK *et al.*, 1997). Esta hipótese é consistente com

dados mostrando que, embora as contagens de monócitos e células T sejam maiores nos receptores de CPP do que nos de MO durante os dois primeiros meses, mais tarde, os monócitos atingem contagens similares, quando as células T permanecerão elevadas nos enxertos de CPP, comparados aos de MO. Isto pode perdurar por pelo menos seis meses após o transplante (OTTINGER *et al.*, 1996). Em nosso estudo, a DECH aguda não ocorreu com maior frequência e nem com formas mais graves no grupo dos transplantes com CPP comparados ao da MO, comparáveis, portanto, aos atuais dados da literatura. Com relação à frequência, a DECH crônica também não foi diferente, porém com uma tendência de maior probabilidade no grupo de CPP ($P=0.08$). Quando separamos, por gravidade, todos os pacientes avaliados com DECH crônica no grupo da CPP evoluíram em sua forma extensiva, comparado à metade no grupo da MO. Esta diferença foi estatisticamente significativa. A DECH crônica *de novo* foi mais comum nos transplantes utilizando CPP, segundo os estudos de MAJOLINO *et al.* (1996) e STOREK *et al.* (1997) mas o mesmo fato não ocorreu em nosso estudo. No geral, também não encontramos diferenças nos órgãos e tecidos acometidos nos dois grupos, com exceção de uma maior incidência do comprometimento da mucosa oral no grupo que recebeu CPP. Dados da literatura sugerem que, após os transplantes alogênicos, o grau da DECH crônica nas glândulas salivares pode ter importância prognóstica. CORREA *et al.* (1997) em um estudo realizado em nosso serviço em 45 pacientes que receberam transplante alogênico relacionado HLA-idêntico, mostraram que os pacientes com lesões de DECH crônica mais intensas em glândulas salivares tinham sobrevida menor.

Os transplantes alogênicos com CPP foram associados a uma alta incidência de DECH crônica (MAJOLINO *et al.*, 1996; STOREK *et al.*, 1997). Por outro lado, a DECH parece estar associada a um menor risco de recidiva leucêmica (SULLIVAN *et al.*, 1989; SLAVIN *et al.*,

1990). Portanto, os transplantes alogênicos com CPP, em que esta complicação parece mais relevante, poderiam estar associados também a uma baixa incidência de recidivas (GLASS *et al.*, 1997). KORBLING *et al.* (1997) relataram uma incidência de recidiva de 18% entre 100 receptores de CPP e 40% entre os receptores de MO em 2 anos pós-transplante. Neste estudo, nós não pudemos confirmar esta observação de menor incidência de recidiva no grupo com CPP. Três dos 18 pacientes com CPP recidivaram ou progrediram numa mediana de acompanhamento de 335 dias, e 2 dos 19 pacientes com MO recidivaram numa mediana de acompanhamento de 631 dias.

No grupo que recebeu CPP, 8/18 pacientes (44,4%) morreram e no grupo da MO, 9/19 pacientes (47,3%). Três dos oito pacientes do grupo da CPP morreram, em decorrência de recidiva ou progressão precoce da doença de base. No grupo da MO foram dois em nove pacientes que faleceram em consequência da recidiva ou progressão da doença. As mortes relacionadas às complicações dos transplantes foram 5 em 8 (62,5%) e 7 em 9 (77,8%), respectivamente, no grupo da CPP e MO. Em que pese um pequeno número de casos, a maior frequência da DECH crônica extensa no grupo da CPP aparentemente não foi uma causa frequente de mortes, já que apenas dois em oito óbitos (25%) foram relacionados a esta complicação, número igual ao encontrado na MO que foi de dois em nove (22,2%).

Este nosso estudo sugere um aumento dos casos de DECH crônica nos pacientes transplantados com CPP, porém um grande número de casos precisa ser acompanhado, prospectivamente, em estudos randomizados e multicêntricos, para determinar se as vantagens da recuperação hematológica mais rápida (BENSINGER *et al.*, 1996) e a provável *reação enxerto-versus-leucemia* (GLASS *et al.*, 1997) poderiam justificar as desvantagens da DECH crônica.

Outro aspecto que nos parece relevante está relacionado à qualidade de vida nos pacientes portadores de DECH crônica. Apesar do desconforto e a necessidade de terapêutica de base para esta complicação, os pacientes têm podido manter uma vida próxima do normal. Deste modo, não acreditamos que uma diminuição da qualidade de vida possa ser um fator impeditivo no caso dos transplantes de CPP. Em adição, nos pacientes com alto risco de recidiva, o desenvolvimento da DECH crônica poderia ter um efeito anti-tumoral benéfico (SULLIVAN *et al.*, 1989; SLAVIN *et al.*, 1990; GLASS *et al.*, 1997; KORBLING *et al.*, 1997).

No entanto, com a falta de dados definitivos, acreditamos que, neste momento, os transplantes alogênicos com CPP não devam ser utilizados como rotina, exceto em estudos prospectivos e controlados.

6. Conclusões

1. A *pega* dos enxertos utilizando CPP ou MO foi similar em ambos os grupos, exceto para a recuperação do número de plaquetas que foi estatisticamente mais rápida no grupo da CPP.
2. Houve uma tendência de alta hospitalar mais precoce para os pacientes que receberam transplante com CPP, porém sem significado estatístico definitivo.
3. Não houve diferença em relação à frequência, à intensidade e à morbi-mortalidade ligada à DECH aguda.
4. O estudo estatístico de probabilidade sugere que a grande maioria dos pacientes do grupo que utilizou as CPP como fonte para o transplante, apresentará DECH crônica ($P=0,08$), com predomínio da forma mais extensa ($P=0,05$).
5. Não houve diferença estatística quanto à sobrevida global e à sobrevida livre de doença, em ambos os grupos. No entanto, estes dados devem ser confirmados por estudos prospectivos, randomizados e multicêntricos.

7. Summary

This is a prospective, randomized study comparing allogeneic bone marrow (BM) and peripheral blood progenitor cell (PBPC) transplantation in the treatment of hematologic malignancies focusing on engraftment, acute and chronic graft versus host disease (GVHD) and survival. From 23/02/1995 until 16/10/1997, 40 patients received HLA identical sibling BM (group A) or PBPC (group B). Evaluable patients at the end were 19 (A) and 18 (B). The median age was 35 (17-56) in A and 29,5 (9-51) in B, respectively ($P=0,17$). The conditioning regimen was Bu (16) / Cy (120) in 16 patients in A and 17 patients in B; Bu (16) / Cy (120) / VP-16 (40) in 3 patients in A and Cy (120) / total body irradiation (13,2 Gy) in 1 patient in B. The GVHD prophylaxis was cyclosporin (CSA) / methotrexate in 16 patients in A and 18 patients in B. Three patients received CSA / Prednisone in A. The donors were treated with G-CSF 10 μ g/kg/day during 5 days and the PBPC were harvested in the fifth day in a single apheresis in the majority of them. The median content of CD 34⁺ cells x 10⁶ / Kg /receptor was 5,26 (1,19-17,55) in A and 4,71 (1,26-71,61) in B ($P=0,40$). The median of days for an absolute neutrophil count (ANC) > 0,5 x 10⁹/l was 18 (13-30) in A and 16 (11-25) in B ($P=0,15$). Platelets counts > 20 x 10⁹/l occurred at +17 (10-40) in A and +12 (9-36) in B ($P=0,01$). Median day of hospital discharge was +26 (18-48) in A and +21 (18-42) in B ($P=0,08$). The probability of ≥ 2 grade a-GVHD was 19% (A) and 27% (B) ($P=0,53$). The probability of all grade c-GVHD was 70% with BM. Although the small number in PBPC, our data suggest the great majority will have c-GVHD ($P=0,08$); extensive disease was present in 50% and 100% in A and B, respectively ($P=0,05$). The estimates of overall survival (OS) for A and B at 1000 days are 51% and 47% respectively ($P=0,67$); disease free survival (DFS) at 1000 days are 52% and 58% respectively ($P=0,50$). In conclusion, the engraftment was similar for both groups, except for platelet recovery (earlier for

PBPC); although not significant, the discharge was earlier for PBPC; there was no difference in acute GVHD. Our data suggest the great majority in the PBPC group will have c-GVHD, and more extensive disease has been seen in this group. No differences in OS and DFS have been seen so far.

8. Referências Bibliográficas

- AGER S, SCOTT MA, MAHENDRA P, RICHARDS EM, JESTICE HK, BERA KS P, BAGLIN TP, MARCUS RE. Peripheral blood stem cell transplantation after high dose therapy in patients with malignant lymphoma: a retrospective comparison with autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 1995; **16**:79-83.
- ALBERT ED, ERICKSON VM, GRAHAM TC. Serology and genetics of the DL-A system. I. Establishment of specificities. *Tissue Antigens*, 1973; **3**:417-430.
- AMOS TA, GORDON MY. Sources of human hematopoietic stem cells for transplantation - a review. *Cell transplant*, 1995; **4**:547-569.
- ANDERLINI P, KORBLING M. The use of mobilized peripheral blood stem cells from normal donors for allografting. *Stem Cells*, 1997; **15**:9-17.
- ANDERLINI P, PRZEPIORKA D, HUH Y, LAUPPE J, MILLER P, SUNDBERG J, SEONG D, CHAMPLIN R, KORBLING M. Duration of filgrastim mobilization and apheresis yield of CD334+ progenitor cells and lymphoid subsets in normal donors for allogeneic transplantation. *Br J Haematol*, 1996; 940-942.
- ANDREWS RG, BARTELMEZ SH, KNITTER GH, MYERSON D, BERNSTEIN ID, APPELBAUM FR, ZSEBO KM. A c-kit Ligand, Recombinant Human Stem Cell Factor, Mediates Reversible Expansion of Multiple CD34+ Colony-Forming Cell Types in Blood and Marrow of Baboons. *Blood*, 1992; **80**:920-927.
- ARMITAGE JO. Bone Marrow Transplantation. *N. Engl J Med*, 1994; **330**:827-838.
- ARSENIEV L, TISCHLER MJ, BATTMER K, SUDMEIER I, CAPER J, LINK H. Treatment of poor marrow graft function with allogeneic CD34⁺ cells immunoselected from G-CSF mobilised peripheral blood progenitor cells of the marrow donor. *Bone Marrow Transplant*, 1994; **14**:791-797.
- ATKINSON K, FARREL C, CHAPMAN G, DOWNS K, PENNY R, BIGGS J. Female marrow donors increase the risk of acute graft-versus-host disease: effect of donor age and parity and analysis of cell populations in the donor marrow inoculum. *Br J Haematol*, 1986; **63**:231-239.

- AVERSA F, TABILIO A, TERENCE A, VELARDI A, FALZETH F, GIANNONI C, IACUCCI R, ZEI T, MARTELLI MP, GAMBELUNGHE C, ROSSETTI M, CAPUTO P, LATINI P, ARISTEI C, RAYMOND C, REISNER Y, MARTELLI M. Successful engraftment of T-cell depleted haploidentical "three loci" incompatible transplantation in leukemia patients by addition of recombinant granulocyte colony-stimulating factor-mobilised peripheral blood progenitor cells to marrow inoculum. *Blood*, 1994; **84**:3948-3955.
- AZEVEDO WM, ARANHA FJ, GOUVEA JV, VIGORITO AC, MARQUES JF, EID KA, AZEVEDO AM, SOUZA CA. Allogeneic transplantation with blood stem cells mobilised by rhG-CSF for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*, 1995; **16**:647-653.
- BACH FH E VANROOD JJ (A). The major histocompatibility complex - genetics and biology. *N Engl J Med*, 1976; **295**:806-813.
- BACH FH E VANROOD JJ (B). The major histocompatibility complex - genetics and biology. *N Engl J Med*, 1976; **295**:872-878.
- BACH FH E VANROOD JJ (C). The major histocompatibility complex - genetics and biology. *N Engl J Med*, 1976; **295**:927-936.
- BACIGALUPO A, VAN LINT MT, VALBONESI M, LERCARI G, CARLIER P, LAMPARELLI T, GUALANDI F, OCCHINI D, BREGANTE S, VALERIANI A, PIAGGIO G, PITTO A, BENVENUTO F, FIGARI O, DE STEFANO G, CAIMO A, SESSAREGO M. Thiotepa cyclophosphamide followed by granulocyte colony-stimulating factor mobilized allogeneic peripheral blood cells in adults with advanced leukemia. *Blood*, 1996; **88**:353-357.
- BANDARENKO N, BRECHER ME, OWEN H, WILEY J, SHEA T, SERODY J. Thrombocytopenia in allogeneic peripheral blood stem cell collections. *Transfusion*, 1996; **36**: 668-669.
- BENDER J, TO TB, SCHWARTZBERG LS. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *J Hematotherapy*, 1992; **1**:329-342.

- BENDER JG, TO LB, WILLIAMS S, SCHWARTZBERG LS. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *J Hematother*, 1992 1:329.
- BENDER JG, UNVERZAGT KL, WALKER DE LEE W, VAN EPPS DE, SMITH DH, STEWART CC, TO LB. Identification and Comparison of CD34-Positive Cells and Their Subpopulations From Normal Peripheral Blood and Bone Marrow Using Multicolor Flow Cytometry. *Blood*, 1991; 77:2591-2596.
- BENSINGER W, SINGER J, APPELBAUM F, LILLEBY K, LONGIN K, ROWLEY S, CLARKE E, CLIFT R, HANSEN J, SHIELDS T, STORB R, WEAVER C, WEIDEN P, BUCKNER CD (A). Autologous Transplantation with Peripheral Blood Mononuclear Cells Collected After Administration of Recombinant Granulocyte Stimulating Factor. *Blood*, 1993; 81: 3158-3163.
- BENSINGER WI, BUCKNER CD, SHANNON-DORCY K, ROWLEY S, APPELBAUM FR, BENYUNES M, CLIFT R, MARTIN P, DEMIRER T, STORB R, LEE M, SCHILLER G (B). Transplantation of Allogeneic CD34⁺ Peripheral Blood Stem Cells in Patients With Advanced Hematologic Malignancy. *Blood*, 1996; 88: 4132-4138.
- BENSINGER WI, CLIFT R, MARTIN P, APPELBAUM FR, DEMIRER T, GOOLEY T, LILLEBY K, ROWLEY S, SANDERS J, STORB R, BUCKNER CD (A). Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced hematologic malignancies: A retrospective comparison with marrow transplantation. *Blood*, 1996; 88:2794-2800.
- BENSINGER WI, LONGIN K, APPELBAUM F, ROWLEY S, WEAVER C, LILLEBY K, GOOLEY T, LYNCH M, HIGANO T, KLARNET J, CHAUNCEY T, STORB R, BUCKNER CD. Peripheral blood stem cells (PBSC) collected after recombinant granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF): an analysis of factors correlating with the tempo of engraftment after transplantation. *Br J Haematol*, 1994; 87: 825-831.
- BENSINGER WI, PRICE TH, DALE DC, APPELBAUM FR, CLIFT R, LILLEBY K, WILLIAMS B, STORB R, THOMAS ED, BUCKNER CD (B). The effects of daily

recombinant human granulocyte stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood*, 1993; **81**: 1883-1888.

BENSINGER WI, WEAVER CH, APPELBAUM F, ROWLEY S, DEMIRER T, SANDERS J, STORB R, BUCKNER D. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilised by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood*, 1995; **85**: 1655-1658.

BISHOP MR, TARANTOLO SR, JACKSON JD, ANDERSON JR, SCHMIT-POKORNY K, ZACHARIAS D, PAVLETIC ZS, PIRRUCCELLO SJ, VOSE JM, BIERMAN PJ, WARKENTIN PI, ARMITAGE JO, KESSINGER. Allogeneic-Blood Stem-Cell Collection Following Mobilization with Low-Dose Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *J Clin Oncol*, 1997; **15**:1601-1607.

BODINE DM, SEIDEL NE, GALE MS, NIENHUIS AW, ORLIC D. Efficient Retrovirus Transduction of Mouse Pluripotent Hematopoietic Stem Cells Mobilized Into the Peripheral Blood by Treatment With Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Stem Cell Factor. *Blood*, 1994; **84**:1482-1491.

BODINE DM, SEIDEL NE, ZSEBO KM, ORLIC D. In Vivo Administration of Stem Cell Factor to Mice Increases the Absolute Number of Pluripotent Hematopoietic Stem Cells. *Blood*, 1993; **82**:445-455.

BORTIN M. A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation*, 1970; **9**: 571-587.

BRIDDELL RA, HARTLEY CA, SMITH KA, MCNIECE IK. Recombinant Rat Stem Cell Factor Synergizes With Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor In Vivo in Mice to Mobilize Peripheral Blood Progenitor Cells That Have Enhanced Repopulating Potential. *Blood*, 1993; **82**:1720-1723.

BROWN RA, ADKINS D, GOODNOUGH LT, HAUG JS, TODD G, WEHDE M, HENDRICKS D, EHLENBECK C, LAUB L, DIPERSIO J. Factors That Influence the Collection and Engraftment of Allogeneic Peripheral-Blood Stem Cells in Patients With Hematologic Malignancies. *J Clin Oncol*, 1997; **15**: 3067-3074.

- BUCKNER CD, PETERSEN FB, BOLONESI BA. Bone marrow donors. In: Forman SJ, Blume KG, Thomas ED (eds): *Bone Marrow Transplantation*. Boston, MA: Blackwell Scientific Publications, 1994; p 259-270.
- BUNGART B, LOEFFLER M, GORIS H, DONTJE B, DIEHL V, NIJHOF W. Differential effects of recombinant human colony stimulating factor (rh G-CSF) on stem cells in marrow, spleen and peripheral blood in mice. *Br J Haematol*, 1990; **76**:174-179.
- CARBONELL F, CALVO W, FLIEDNER TM, KRATT E, GERHARTZ H, KORBLING M, NOTHDURFT W, ROSS WM. Cytogenetic Studies in Dogs After Total Body Irradiation na Allogeneic Transfusion with Cryopreserved Blood Mononuclear Cells: Observations in Long-Term Chimeras. *Int J Cell Clonig* 1984 Mar; **2**(2): 81-88.
- CASPAR CB, SEGER RA, BURGER J, GMUR J. Effective Stimulation of Donors for Granulocyte Transfusions With Recombinant Methionyl Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Blood*, 1993; **81**:2866-2871.
- CAVINS JA, KASAKURA S, THOMAS ED, FERREBEE JW. Recovery of lethally irradiated dogs following infusion of autologous marrow stored at low temperature in dimethylsulphoxide. *Blood*, 1962; **20**: 730-734.
- CHAO NJ, SCHMIDT GM, NILAND JC, AMYLON MD, DAGIS AC, LONG GD, NADEMANEE AP, NEGRIN RS, O'DONNELL MR, PARKER PM, SMITH EP, SNYDER DS, STEIN AS, WONG RM, BLUME KG, FORMAN SJ. Cyclophosphamide, methotrexate, and prednisone compared with cyclosporine and prednisone for prophylaxis of acute graft-versus-host disease. *N Engl J Med*, 1993; **329**:1225-1230.
- CIAVARELLA D. Hematopoietic stem cell processing and storage, in Goldstein J (ed): *Biotechnology of Blood*. Boston, MA, Buthler-worth-Heinemann, 1991, p317.
- CORREA MEP, METZE K, AZEVEDO AM, VIGORITO AC, ARANHA FJP, EID KAB, CINTRA ML. Histology of the labial salivary glands as a prognostic factor after allogeneic bone marrow transplantation. *Pathol Res Pract*, 1997, **193**/5-6: 414.

- CYN Shi O, SATOH K, SHIMONAKA Y, HATTORI K, NOMURA H, IMAI N, HIRASHIMA K. Reduced response to granulocyte colony-stimulating factor in *W/W^u* and *SL/SL^d* mice. *Leukaemia*, 1991; **5**:75-80.
- DEEG HJ. GRAFT FAILURE. In: BURT RK, DEEG HJ, LOTHIAN ST, SANTOS GW (eds): *Bone Marrow Transplantation*. Georgetown, Texas. R.G. Landes Company, 1996; 309-316.
- DOOLEY DC, LAW. Detection and quantitation of long-term culture-initiating cells in normal human peripheral blood. *Exp Hematol*, 1992; **20**:156-160.
- DREGER P, HAERLACH T, ECKSTEIN V, JACOBS S, SUTTORP M, LOFFLER H, MULLER RUCHHOLZ W, SCHMITZ N. G-CSF mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic: safety, kinetics of mobilization and composition of the graft. *Br J Haematol*, 1994; **87**: 609-613.
- DREGER P, SUTTORP M, HAERLACH T, LOFFLER H, SCHMITZ N, SCHROYENS W. Allogeneic granulocyte colony-stimulating factor mobilised peripheral blood progenitor cells for treatment of engraftment failure after bone marrow transplantation. *Blood*, 1993; **81**: 1404-1407.
- DREGER P, VIEHMANN K, STEINMANN J, ECKSTEIN V, MULLER-RUCHHOLTZ W, LOFFLER H, SCHMITZ N. G-CSF-mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: Comparison of T cell depletion strategies using different CD34+ selection systems or CAMPATH-1. *Exp Hematol*, 1995; **23**: 147-154.
- DUHRSEN U, VILLEVAL JL, BOYD J, KANNOURAKIS G, MORSTYN G, METCALF D. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood*, 1988; **72**: 2074-2079.
- FEGAN C, THOMAS H, BAILEY-WOOD R, COLEMAN S, PHILIPS S, HOY T, WHITTAKER JÁ. In Vitro LAK (lymphokine activated killer) activity following autologous peripheral blood stem cell is significantly greater than that following autologous bone marrow and allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 1995; **16**: 277-281.

- FRITSCH G, FISCHMEISTER G, HAAS AO, PETERS C, GADNER H, STROBL H, HOCKER P, KURZ M. Peripheral blood hematopoietic progenitor cells of cytokine-stimulated healthy donors as na alternative for allogeneic transplantation. *Blood*, 1994; **83**: 3420-3421.
- GERRITSEN WR, O'REILLY RJ. Granulocyte Colony-Stimulating Factor (CSF) But Not Interleukin-1 (IL-1), IL-3, and Granulocyte-Macrophage CSF Protect Bone Marrow Progenitor Cells From Suppression by Allosensitized Cytotoxic T Cells. *Blood*, 1994; **84**: 1906-1912.
- GLASS B, UHAREK L, ZEIS M, DREGER P, LOFFLER H, STEINMANN J, SCHMITZ N. Allogeneic Peripheral Blood Progenitor Cell Transplantation in a Murine Model: Evidence for na Improved Graft-Versus-Leukemia Effect. *Blood*, 1997; **90**:1694-1700.
- GLUCKSBERG H, STORB R, FEFER A. Clinical manifestation of graft-versus-host-disease in human recipients of marrow from HLA matched sibling donors. *Transplantation*, 1974; **18**: 295-304.
- GOLDMAN J. Peripheral blood stem cells for allografting. *Blood*, 1995; **85**:1413-1415.
- GOODMAN JW, HODGSON GS. Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood*, 1962; **19**: 702-714.
- GORDON MY, LEWIS JL, MARLEY SB, GRAND FH, GOLDMAN JM. Stromal cells negatively regulate primitive haemopoietic progenitor cell activation via a phosphatidylinositol-anchored cell adhesion/signalling system. *Br J Haematol*, 1996; **96**:647-653.
- GRATWOHL A, HERMANS J AND BALDOMERO H FOR THE EUROPEAN GROUP FOR BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION (EBMT). Blood and marrow transplantation activity in Europe 1995. *Bone Marrow Transplant*, 1997; **19**: 407-419.
- GRATWOHL A, SCHMITZ N. First international symposium on allogeneic peripheral blood precursor cell transplants. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **17** (suppl 2):S1-S13.

- GRATWOHL A; BALDOMERO H; JOHN L; FILIPOWICZ A, TICHELLI A, NISSEN C, SPECK B (B). Allogeneic peripheral blood precursor cell transplants in rabbits. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **17** (supp2):S14-S18.
- GRATWOHL A; HERMANS J. Indications and donor source of hematopoietic stem cell transplants in Europe 1993: report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Clin Transplant*, 1995; **9**: 355-363.
- GRATWOHL, A, BALDOMERO H, HERMANS J (A). Haemopoietic precursor cell transplant activity in Europe 1994. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **17**:137-148.
- GRIGG AP, ROBERTS AW, RAUNOW H, HOUGHTON S, LAYTON JE, BOYD AW, MCGRATH KM, MAHER D. Optimizing Dose and Scheduling of Filgrastim (Granulocyte Colony-Stimulating Factor) for Mobilization and Collection of Peripheral Blood Progenitor Cells in Normal Volunteers. *Blood*, 1995; **86**:4437-4445.
- 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 lymphoma. *Blood*, 1994; **83**:3789-3792.
- HARADA M, NAGAFUJI K, FUJISAKI T, KUBOTA A, MIZUNO SI, TAKENAKA K, MIYAMOTO T, OHNO Y, GONDO H, KUROIWA M, OKAMURA T, INABA S, NIHO Y. G-CSF- Induced Mobilization of Peripheral Blood Stem Cells from Healthy Adults for Allogeneic Transplantation. *J Hematother*, 1996; **5**: 63-71.
- HARADA M. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation is coming of age. *Int J Hematol*, 1995; **62**:1-5.
- HASENCLEVER D, SEXTRO M. Safety of AlloPBPCT donors: Biometrical considerations on monitoring long term risks. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **17**(suppl2): S28-S30.

- HASSAN HT, STOCKSCHLADER M, SCHLEIMER B, KRUGER W, ZANDER AR. Comparison of the content and subpopulations of CD3 and CD34 positive cells in bone marrow harvests and G-CSF-mobilized peripheral blood leukapheresis products from healthy adult donors. *Transplant Immunology*, 1996; 4:319-323.
- HAYNES AP, HUNTER AE, MCQUAKER G, ANDERSON S, BIENZ N, RUSSELL NH. Engraftment characteristics of peripheral blood stem cells mobilised by cyclophosphamide and delayed addition of G-CSF. *Bone Marrow Transplant*, 1995; 16:359-363.
- INO K, SINGH RK, TALMADGE JE. Monocytes from mobilized stem cells inhibit T cell function. *J Leukoc Biol*, 1997; 61: 583-591.
- JACOBSON LO; SIMMONS EL; MARKS EK; ELDREDGE JH. Recovery from radiation injury. *Science*, 1951; 113:510-511.
- JANSEN J, GOSELINK HM, VEENHOF W, ZWAAN FE, BLOTKAMP C. The impact of the composition of the bone marrow graft on engraftment and graft versus host disease. *Exp Hematol*, 1983; 11:967-973.
- KAPLAN ED, MEIER P. Non parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457-481.
- KERNAN NA, COLLINS NH, JULIANO L, CARTAGENA T, DUPONT B, O'REILLY RJ. Clonable T lymphocytes in T cell-depleted bone marrow transplants correlate with development of graft-v-host disease. *Blood*, 1986; 68: 770-773.
- KESSINGER A, SMITH DM, STRANDFORD SE, LANDMARK JD, DOOLEY DC, LAW P, COCCIA PF, WARKENTIN PI, WEISENBERGER DD, ARMITAGE JO. Allogeneic transplantation of blood-derived T-cell depleted hemopoietic stem cells after myeloablative treatment in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant*, 1989; 4: 643-646.

- KORBLING M, ANDERLINI P, DURETT A, MAADANI F, BOJKO P, SEONG D, GIRALT S, KHOURI I, ANDERSON B, MEHRA R, VANBESIEN K, MIRZA N, PRZEPIORKA D, CHAMPLIN R. Delayed effects of rhG-CSF mobilization treatment and apheresis on circulating CD34⁺ and CD34⁺ Thy-1^{dim} CD 38⁺ progenitor cells, and lymphoid subsets in normal stem cell donors for allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **18**: 1073-1079.
- KORBLING M, HUH Y, DURETT A, MIRZA N, MILLER P, ENGEL H, ANDERLINI P, VAN BESIEN K, ANDREEF M, PRZEPIORKA D, DEISSEROTH AB, CHAMPLIN RE (A). Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralisation and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34⁺, Thy 1^{dim}) and lymphoid subsets and possible predictors of engraftment and graft-versus-host disease. *Blood*, 1995; **86**: 2842-2848.
- KORBLING M, MIRZA N, THALL P, PRZEPIORKA D, ANDERLINI P, HUH Y, FISHER H, FAHMY H, CHAMPLIN R. 100 HLA-identical allogeneic blood stem transplantations: The M.D. Anderson Cancer experience. *Bone Marrow Transplant*, 1997; **19** (suppl 1): S72.
- KORBLING M, PRZEPIORKA D, HUH Y, ENGEL H, VAN BESIEN K, GIRALT S, ANDERSON B, KLEINE HD, SEONG D, DEISSEROTH AB, ANDREEF M, CHAMPLIN R (B). Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: potential advantages of blood over marrow allografts. *Blood*, 1995; **85**: 1659-1665.
- LATERVEER L, LINDLEY IJD, HAMILTON MS, WILLEMZE R, FIBBE WE (A). Interleukin-8 Induces Rapid Mobilization of Hematopoietic Stem Cells With Radioprotective Capacity and Long-Term Myelolymphoid Repopulating Ability. *Blood*, 1995; **85**:2269-2275.
- LATERVEER L, LINDLEY IJD, HEEMSKERK K, WILLEMZE R, FIBBE WE (B). Rapid Mobilization of Stem Cells in Rhesus Monkeys After a Single IV Injection of IL-8. *Bone Marrow Transplant*, 1995; **15** (suppl 2): S7.
- LEITNER A, STROBL H, FISCHMEISTER G, KURZ M, ROMANAKIS K, HAAS AO, PRINTZ D, BUCHINGER P, BAUER S, GADNER H. Lack of DNA synthesis among

- CD34⁺ cells in cord blood and in cytokine-mobilized blood. *Br J Haematol*, 1996; **92**:255-262.
- LINDEMANN A, HERRMANN F, OSTER W, HAFFNER G, MEYENBURG W, SOUZA L, MERTELSMANN R. Hematologic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients with malignancy. *Blood*, 1989; **74**:2644-2651.
- LINK H, ARSENIIEV L, BAHRE O, KADAR JG, DIEDRICH H, POLIWODA H. Transplantation of Allogeneic CD34⁺ Blood Cells. *Blood*, 1996; **87**:4903-4909.
- LIU F, POURSIENE-LAURENT J, LINK D. The Granulocyte Colony-Stimulating Factor Receptor Is Required for the Mobilization of Murine Hematopoietic Progenitor Into Peripheral Blood by Cyclophosphamide or Interleukin-8 But Not Flt-3 Ligand. *Blood*, 1997; **90**:2522-2528.
- LORENZ E, UPHOFF D, REID TR, SHELTON E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst*, 1951; **12**:197-201.
- MAJOLINO I, AVERSA F, BACIGALUPO A, BANDINI G, ARCESE W, REALI G. Allogeneic transplants of rhG-CSF-mobilized peripheral blood stem cells (PBSC) from normal donors (A). *Haematologica*, 1995; **80**:40-43.
- MAJOLINO I, AVERSA F, BACIGALUPO A, BANDINI G, ARCESE W. Peripheral blood stem cells for allogeneic transplantation. Recommendations from the GITMO 1996. *Haematologica*, 1996; **81**:529-532.
- MAJOLINO I, BUSCENI F, SCIMÉ R, INDOVINA A, SANTORO A, VASTA S, PAMPINELLA M, CATANIA P, FIANDACA T, CARONIA F, MARCENÓ R (B). Treatment of Normal Donors With rhG-CSF 16 µg/kg For Mobilization of Peripheral Blood Stem Cells and Their Apheretic Collection For Allogeneic Transplantation. *Haematologica*, 1995; **80**: 219-226.

- MAJOLINO I, SAGLIO G, SCIME R, SERRA A, CAVALLARO AM, FIANDACA T, VASTA S, PAMPINELLA M, CATANIA P, INDOVINA A, MARCENO R, SANTORO A. High incidence of chronic GVHD after primary allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **17**: 555-560.
- MARTINEZ C, URBANO-ISPIZNA; ROZMAN C; MARIN P; MAZZARA R; CARRERAS E; ROVIRA M.; SIERRA J; BRIONES J; ORDINAS A; MONTSERRAT E. Effects of G-CSF administration and peripheral blood progenitor cell collection in 20 healthy donors. *Ann Hematol*, 1996; **72**: 269-272.
- MASSUMOTO CM, MIZUKAMI S, CAMPOS MF, SILVA LAG, TUTIYA I, BEITLER B, MELO N, CHAMONE DF, DULLEY F. Determinação de células CD 34 positivas no SP: otimização de método utilizando-se associadamente anticorpo monoclonal anti CD-14. *RBAC*, 1997; **29**:89-92.
- MATHÉ G, SCHWARZENBERG L, AMIEL JL. Immunogenetic and immunologic problems of allogeneic haematopoietic radio-chimeras in man. *Scandinavian Journal of Haematology*, 1967; **4**: 193-216.
- MATSUNAGA T, SAKAMAKI S, KOHGO Y, OHI S, HIRAYAMA Y, NIITSU Y. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor can mobilize sufficient amounts of peripheral blood stem cells in healthy volunteers for allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 1993; **103**-108.
- MAVROUDIS D, READ E, COTTLER-FOX M, COURIEL D, MOLLDREM J, CARTER C, YU M, DUNBAR C, BARRETT J. CD34⁺ Cell Dose Predicts Survival, Posttransplant Morbidity, and Rate of Hematologic Recovery After Allogeneic Marrow Transplants for Hematologic Malignancies. *Blood*, 1996; **88**:3223-3229.
- MCCREDIE KB, HERSH EM, FREIREICH EJ. Cells capable of colony formation in the peripheral blood of man. *Science*, 1971; **171**:293-294.

- MIFLIN G, CHARLEY C, STAINER C, ANDERSON S, HUNTER A, RUSSELL N. Stem cell mobilization in normal donors for allogeneic transplantation: analysis of safety and factors affecting efficacy. *Br J Haematol*, 1996; **95**: 345-348.
- MIFLIN G, RUSSEL NH, HUTCHINSON RM, MORGAN G, POTTER M, PAGLIUCA A, MARSH J, BELL A, MILLIGAN D, LUMLEY M, COOK G, FRANKLIN I. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for haematological malignancies - an analysis of kinetics of engraftment and GVHD risk. *Bone Marrow Transplant*, 1997 **19**:9-13.
- MILLS KC, GROSS TG, VARNEY ML, HEIMANN DG, REED EC, KESSINGER A, TALMADGE JE. Immunologic phenotype and function in human bone marrow, blood stem cells and umbilical cord blood. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **18**:53-61.
- MOLINEUX G, MIGDALSKA A, SZMITKOWSKI M, ZSEBO K, DEXTER TM. The effects on Hematopoiesis of Recombinant Stem Cell Factor (Ligand for c-kit) Administered In Vivo to Mice Either Alone or in Combination With Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Blood*, 1991; **78**:961-966.
- MOLINEUX G, POJDA Z, HAMPSON N, LORD BI, DEXTER TM. Transplantation potencial of peripheral blood stem cells induced by granulocyte-colony stimulating factor. *Blood*, 1990; **76**:2153-2158.
- NEBEN S, MARCUS K, MAUCH P. Mobilization of Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Subpopulations From the Marrow to the Blood of Mice Following Cyclophosphamide and/or Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Blood*, 1993; **81**:1960-1967.
- NEGRIN RS, KUSNIER-GLAZ R, BLUME K, STROBER S. Enrichment of allogeneic CD34⁺ cells and T-cell depletion by Percoll density gradient separation . (Abstract). *Bone Marrow Transplant*, 1996; **17** (suppl 2).
- NEMUNAITIS J, SINGER JW, BUCKNER CD, DURNAM D, EPSTEIN C, HILL R, STORB R, THOMAS ED, APPELBAUM FR. Use of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in graft failure after bone marrow transplantation. *Blood*, 1990; **76**: 245-253.

- NEUBAUER MA, BENYUNES MC, THOMPSON JA, BENSINGER WI, LINDGREN CG, BUCKNER CD, FEFER A. Lymphokine-activated killer (LAK) precursor cell activity is present in infused peripheral blood stem cells and in the blood after autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 1994; **13**: 311-316.
- OKAMOTO S, ISHIDA A, WAKUI M, TANOSAKI R, ODA A, IKEDA Y. Prolonged thrombocytopenia after administration of granulocyte colony-stimulating factor and leukapheresis in a donor for allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **18**: 482-483.
- OTTINGER HD, BEELEN DW, SCHEULEN B, SCHAEFER UW, GROSSE-WILDE H. Improved Immune Reconstitution After Allotransplantation of Peripheral Blood Stem Cells Instead of Bone Marrow. *Blood*, 1996; **88**:2775-2779.
- PAN L, DELMONTE J, JALONEN CK, FERRARA JLM. Pretreatment of Donor Mice With Granulocyte Colony-Stimulating Factor Polarizes Donor T Lymphocytes Toward Type-2 Cytokine Production and Reduces Severity of Experimental Graft-Versus-Host-Disease. *Blood*, 1995; **86**: 4422-4429.
- PAPAYANNOPOULOU T, NAKAMOTO B. Peripheralisation of hemopoietic progenitors in primates treated with anti -VLA-4 integrin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; **90**:9374-9378.
- PONCHIO L, EAVES C, HOGGE D, PEROTTI C, TORRETTA L, CERANI P, SALVANESCHI L, ASCARI E, CAZZOLA M. Both cycling and noncycling primitive progenitors continue to be mobilized into the circulation during the leukapheresis of patients pretreated with chemotherapy and G-CSF. *Br J Haematol*, 1997; **99**: 394-402.
- PROSPER F, STRONCEK D, VERFAILLIE CM. Phenotypic and functional characterization of long-term culture-initiating cells present in peripheral blood progenitor collections of normal donors treated with granulocyte colony-stimulating factor. *Blood*, 1996; **88**:2033-2042.

- REVEL T, APPELBAUM FR, STORB R, SCHUENING F, NASH R, DEEG J, MCNIECE I, ANDREWS R, GRAHAM T. Effects of Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Stem Cell Factor, Alone and in Combination, on the Mobilization of Peripheral Blood Cells That Engraft Lethally Irradiated Dogs. *Blood*, 1994; **83**: 3795-3799.
- RICE A, BARBOT C, LACOMBE F, DUBOSE-MARCHENAY N, MARIT G, HAU F, BOIRON JM, REIFFERS J. 5-fluorouracil permits access to a primitive subpopulation of peripheral blood stem cells. *Stem Cells*, 1993; **11**:326-335.
- RICE A, BOIRON JM, BARBOT C, DUPOUY M, DUBOSE-MARCHENAY N, DUMAIN P, LACOMBE F, REIFFERS J. Cytokine-mediated expansion of 5-FU-resistant peripheral blood stem cells. *Exp Hematol*, 1995; **23**:303-308.
- ROBERTS AW, METCALF D. Noncycling state of peripheral blood progenitor cells mobilized by granulocyte colony-stimulating factor and other cytokines. *Blood*, 1995; **86**:1600-1605.
- RUSSELL JA, 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*, 1995; **15**: 111-115.
- RUSSELL NH, GRATWOHL A, SCHMITZ N. The Place of blood stem cells in allogeneic transplantation. *Br J Haematol*, 1996; **93**:747-753.
- RUSSELL NH, HUNTER AE, ROGERS S, HANLEY J, ANDERSON D. Peripheral blood stem cells as an alternative to marrow for allogeneic transplantation. *Lancet*, 1993; **341**:1482.
- RUSSELL NH, HUNTER AE. Peripheral blood stem cells for allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 1994; **13**:353-355.
- SANDMAIER BM, STORB R, SANTOS EB, KRIZANAC-BENGEZ L, LIAN T, MCSWEENEY PA, YU C, SCHUENING FG, DEEG HJ, GRAHAM T. Allogeneic Transplants of Canine Peripheral Blood Stem Cells Mobilized by Recombinant Canine Hematopoietic Growth Factor. *Blood*, 1996; **87**:3508-3513.

- SANTOS GW. History of bone marrow transplantation. *Clin Haematol*, 1983; **12**:611-639.
- SANTUCCI MA, LEMOLI RM, TURA S. Peripheral Blood Mobilization of Hematopoietic Stem Cells: Cytokine-Mediated Regulation of Adhesive Interactions within the Hematopoietic Microenvironment. *Acta Haematol*, 1997; **97**:90-96.
- SATO N, SAWADA K, TAKAHASHI TA. A time course study of optimal harvest of peripheral blood progenitor cells by granulocyte colony-stimulating factor in healthy volunteers. *Exp Hematol*, 1994; **22**: 973-978.
- SCHMIDT-WOLF I, DEJBAKHSJ-JONES S, GINZTON N, GREENBERG P, STROBER S. T-cell subsets and suppressor cells in human bone marrow. *Blood*, 1992; **80**: 3242-3250.
- SCHMITZ N, BACIGALUPO A, LABOPIN M, MAJOLINO I, COOK G, GORIN N, ROZMAN C, LAMBERLENGHI-DELILIERIS G, LANGE A, BRINCH L, GRATWOHL A (A). Allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation in Europe in 1994. (Abstract). *Bone Marrow Transplant*, 1996; **17** (Suppl 2).
- SCHMITZ N, BACIGALUPO A, LABOPIN M, MAJOLINO I, LAPORTE JP, BRINCH L, COOK G, DELILIERIS GL, LANGE A, ROZMAN C, GARCIA-CONDE J, FINKE J, DOMINGO-ALBOS A, GRATWOHL A (C). Transplantation of peripheral blood progenitor cells from HLA-identical sibling donors. *Br J Haematol*, 1996; **95**:715-723.
- SCHMITZ N, DREGER P, SUTTORP M, ROHMEDDER EB, HAFERLACH T, LOFFLER H, HUNTER A, RUSSEL NH. Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilised by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor). *Blood*, 1995; **85**: 1666-1672.
- SCHMITZ N, LINCH DC, DREGER P, GOLDSTONE A, BOOGAERTS M, FERRANT A, DEMUJNCK H, LINK H, ZANDER A, BARGE A, BORKETT K (B). Filgrastim mobilized peripheral blood progenitor cell transplantation in comparison with autologous bone marrow transplantation: results of a randomised phase III trial in lymphoma patients. *Lancet*, 1996; **347**: 353-357.

- SCHWINGER W. Single dose of filgrastim (rhG-CSF) increases the number of hematopoietic progenitors in the peripheral blood of adult volunteers. *Bone Marrow Transplant*, 1993; **11**:489-492.
- SCOTT MA, APPERLEY JF, BLOXHAM DM, JESTICE HK, JOHN S, MARCUS RE, GORDON MY. Biological properties of peripheral blood progenitor cells mobilized by cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor. *Br J Haematol*, 1997; **97**:474-480.
- SHERIDAN WP, BEGLEY CG, JUTTNER CA, SZER J, TO LB, MAHER D, MCGRATH KM, MORSTYN G, FOX RM. Effect of peripheral blood progenitor cells mobilised by filgrastim on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet*, 1992; **339**:640-644.
- SHULMAN HM, SULLIVAN KM, WEIDEN PL. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med*, 1980; **69**: 204-217.
- SICCA S, RUTELLA S, DI MARIO A, SALUTARI P, RUMI C, ORTU LA BARBERA E, ETUK B, MENICHELLA G, D'ONOFRIO G, LEONE G. rh-CSF in Healthy Donors: Mobilization of Peripheral Hemopoietic Progenitors and Effect on Peripheral Blood Leukocytes. *J Hematother*, 1996; **5**: 391-397.
- SIMMONS PJ, LEAVESLEY DI, LEVESQUE JP, SWART BW, HAYLOCK DN, TO LB, ASHMAN LK, JUTTNER CA. The Mobilization of Primitive Hemopoietic Progenitors into the Peripheral Blood. *Stem Cells*, 1994; **12**(suppl1):187-202.
- SLAVIN S, AKERSTEIN A, NAPARSTEK E, OR R, WEISS L. The graft-versus-leukemia phenomenon: Is GVL separable from GVHD? *Bone Marrow Transplant*, 1990; **6**:155-161.
- STONE RM, NEUBERG D, SOIFFER R, *et al*. Myelodysplastic syndrome as a late complication following autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*, 1994; **12**:2535-2542.
- STORB R, EPSTEIN RB & THOMAS ED. Marrow repopulating ability of peripheral blood cells compared to thoracic duct cells. *Blood*, 1968; **32**:662-667.

- STORB R, EPSTEIN RB, RAGDE H, THOMAS ED. Marrow engraftment by allogeneic leukocytes in lethally irradiated dogs. *Blood*, 1967; **30**: 805-811.
- STOREK J, GOOLEY T, SIADAK M, BENSINGER WI, MALONEY DG, CHAUNCEY TR, FLOWERS M, SULLIVAN KM, WITHERSPOON RP, ROWLEY SD, HANSEN JA, STORB R, APPELBAUM FR. Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation May Be Associated With a High Risk of Chronic Graft-Versus-Host Disease. *Blood*, 1997; **90**: 4705-4709.
- STROBER S, PALATHUMPAT V, SCHWADRON R, HERTEL-WULF B. Cloned natural suppressor cells prevent lethal graft-v-host disease. *J Immunology*, 1987; **138**: 699-708.
- SULLIVAN KM, WEIDEN PL, STORB R, WITHERSPOON RP, FEFER A, FISHER L, BUCKNER CD, ANASETTI C, APPELBAUM FR, BADGER C. Influence of acute and chronic graft-versus-host disease on relapse and survival after bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment of acute and chronic leukemia. *Blood*, 1989; **73**: 1720-1728.
- SULLIVAN KM. GRAFT VERSUS HOST DISEASE. IN: FORMAN SJ, BLUME KG, THOMAS ED (editors). *Bone Marrow Transplantation*. Boston: Blackwell, 1994; 339-362.
- TALMADGE JE, REED E, INO K, KESSINGER A, KUSZYNSKI C, HEIMANN D, VARNEY M, JACKSON J, VOSE JM, BIERMAN PJ. Rapid immunologic reconstitution following transplantation with mobilized peripheral blood stem cells as compared to bone marrow. *Bone Marrow Transplant*, 1997; **19**:161-172.
- TALMADGE JE, REED EC, KESSINGER A, KUSZYNSKI CA, PERRY GA, GORDY CL, MILLS KC, THOMAS ML, PIRRUCCELLO SJ, LETHEBY BA, ARNESON MA, JACKSON JD. Immunologic attributes of cytokine mobilized peripheral blood stem cells and recovery following transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **17**:101-109.
- THOMAS ED, STORB R, CLIFT RA, FEFER A, HOHNSON FL, NEIMAN PE, LERNER KG, GLUCKSBERG H, BUCKNER CD (A). Bone marrow transplantation. *N Engl J Med*, 1975; **292**:832-843.

- THOMAS ED, STORB R, CLIFT RA, FEFER A, HOHNSON FL, NEIMAN PE, LERNER KG, GLUCKSBERG H, BUCKNER CD (B). Bone marrow transplantation. *N Engl J Med*, 1975; **292**:895-902.
- TJONNFJORD GE, STEEN R, EVENSEN SA, THORSBY E, EGELAND T. Characterization of CD 34⁺ Peripheral Blood Cells From Healthy Adults Mobilized by Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Blood*, 1994; **84**:2795-2801.
- TO LB, HAYLOCK DN, DOWSE T, SIMMONS PJ, TRIMBOLIS H, ASHMAN LK, JUTTNER CA. A comparative study of the phenotype and proliferative capacity of peripheral blood (PB) CD 34⁺ cells mobilised by two different protocols and those of steady-phase PB and bone marrow CD 34⁺ cells. *Blood*, 1994; **84**:2930-2939.
- TO LB, HAYLOCK DN, SIMMONS PJ, JUTTNER CA. The Biology and Clinical Uses of Blood Stem Cells. *Blood*, 1997; **89**:2233-2258.
- TO LB, ROBERTS MM, HAYLOCK DN, DYSON PG, BRANFORD AL, THORP D, HOJOK DARK GW, HORVATH J, DAVY MIJ, OLWENY CLM, ABDI E, JUTTNER CA. Comparison of hematological recovery times and supportive care requirements of peripheral blood stem cell transplants, autologous bone marrow transplants and allogeneic bone marrow transplants. *Bone Marrow Transplant*, 1992; **9**: 279-284.
- TUTSCHKA PJ, COPELAN EA, KLEIN JP. Bone Marrow Transplantation for leukemia following a new busulfan and cyclophosphamide regimen. *Blood*, 1987; **70**: 1382-1386.
- URBANO-ISPIZUA A, SOLANO C, BRUNET S, HERNÁNDEZ F, SANZ G, ALEGRE A, PETIT J, BESALDUCH J, VIVANCOS P, DÍAZ MA, MORALEDA JM, CARRERAS E, OJEDA E, DE LA RUBIA J, BENET I, DOMINGO-ALBÓS, CONDE-GARCÍA J AND ROZMAN C. Allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation: analysis of short-term engraftment and acute GVHD incidence in 33 cases. *Bone Marrow Transplant*, 1996; **18**:35-40.

- VAN BEKKUM DW E DE VRIES MJ. Radiation chimaeras. Radiobiological Institute of the Organization for Health Research TNO, Rijswijk ZH Netherlands. *Academic Press*, 1967; New York.
- VERBICK DJ, JACKSON JD, PIRRUCCELLO SJ, PATIL KD, KESSINGER A, JOSHI SS. Functional and Phenotypic Characterization of Human Peripheral Blood Stem Cell Harvests: A Comparative Analysis of Cells From Consecutive Collections. *Blood*, 1995; **85**: 1964-1970.
- VERDONCK LF, DEKKER AW, DE GAST GC, VAN KEMPEN ML, LOKHORST HM, NIEUWENHUIS HK. Allogeneic bone marrow transplantation with a fixed low number of T cells in the marrow graft. *Blood*, 1994; **83**: 3090-3096.
- WALLER CF, BERTZ H, WENGER MK, FETSCHER S, HARDUNG M, ENGELHARDT M, BEHRINGER D, LANGE W, MERTELSMANN R, FINKE J. Mobilization of peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: efficacy and toxicity of a high - dose rhG-CSF regimen. *Bone Marrow Transplant*, 1996; : 279-283.
- WATANABE T, DAVE B, HEIMANN DG, LETHABY E, KESSINGER A, TALMADGE JE. GM-CSF-mobilized peripheral blood CD34⁺ cells differ from steady-state bone marrow CD34⁺ cells in adhesion molecule expression. *Bone Marrow Transplant*, 1997; **19**:1175-1181.
- WEAVER CH, BUCKNER CD, LONGIN K, APPELBAUM FR, ROWLEY S, LILLEBY K, MISER J, STORB R, HANSEN JA. Syngeneic transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after the administration of recombinant human granulocyte colony-stimulation factor. *Blood*, 1993; **82**:1981-1984.
- WEINTHAL JA, NEMUNAITIS JJ, ASTON S, MAGSAMEN MJ, ROSENFELD CS. Analysis of apheresis content of progenitor cell collections from normal donors to whom granulocyte-colony-stimulating factor is administered. *Transfusion*, 1996; **36**:943-947.

Apêndices

Apêndice I

Grau da DECH aguda

Gravidade do envolvimento individual de órgãos

Pele

- +1: erupção maculopapular envolvendo menos do que 25% da superfície corporal.
- +2: erupção maculopapular - 25-50% da superfície corporal.
- +3: eritrodermia generalizada.
- +4: eritrodermia generalizada com formação de bolhas e freqüente descamação.

Fígado

- +1: bilirrubinas entre 2 - 3 mg/dl.
- +2: bilirrubina entre 3,1 - 6 mg/dl.
- +3: bilirrubina entre 6,1 - 15 mg/dl.
- +4: bilirrubina > 15 mg/dl.

Intestino

- +1: diarreia > 500 ml/dia.
- +2: diarreia > 1000 ml/dia.
- +3: diarreia >1500 ml/dia.
- +4: > 2000 ml/dia; ou dor acentuada.

Gravidade da DECH agudo

Grau I

- pele +1 a +2.
- sem envolvimento intestinal.
- fígado não maior a +1.
- sem piora do *performance status* ou febre.

Grau II

- pele +1 a +3.
- intestino +1 a +2 e/ou fígado +1 a +2.
- diminuição leve do *performance status* ou febre.

Grau III

- pele +2 a +4 e intestino +2 a +4, com ou sem fígado +2 a +4.
- diminuição acentuada do *performance status*, com ou sem febre.

Grau IV

- gravidade da DECH semelhante ao grau III, com sintomas constitucionais extremos.

Apêndice II

Doença do Enxerto contra o Hospedeiro Crônica

Limitada

1. Envolvimento de pele localizada e/ou
2. Disfunção hepática devida à DECH

Extensa

1. Envolvimento de pele generalizada, ou
2. Envolvimento de pele localizada e/ou disfunção hepática devida à DECH mais
3.
 - a. Histologia hepática mostrando hepatite crônica agressiva, cirrose, ou
 - b. Envolvimento dos olhos (Teste de Schirmer menor do que 5 mm), ou
 - c. Envolvimento de glândulas salivares ou mucosa oral demonstrados por biópsia, ou
 - d. Envolvimento de outros órgãos.

Apêndice III

Parâmetros Clínicos dos pacientes e doadores

MO: n = 19

UPN	SxP	SxD	IdaP	IdaD	Diagn	Gen	Flaq	TotMo x 10 ⁶	TotNu x 10 ⁸	CD3 x 10 ⁶	CD4 x 10 ⁶	CD8 x 10 ⁶	CD34 x 10 ⁶	Dia DEx	DEx 0 - I	DEx II-IV	DEx L/Ex	Dia DEx	Alta dias	Bili Max	Cr Max	NPP dias	Flaq	Hem	Ant dias	Anf dose
50	F	F	27,9	30	LLAIRC	14	12	1,92	3,04	47	20,95	18,66	3,31	21	1	0	0	0	18	5,6	0,62	15	18	7	15	0
54	F	M	20,5	12	LMCIPC	21	12	1,49	3,09	26,37	10,99	13,43	17,55	0	0	0	0	0	22	1,3	1,13	13	17	4	13	0
64	M	M	22,6	40	LMArebr	30	26	1,94	2,57	54,85	27,32	24,49	4,97	0	0	0	0	0	32	0,7	1,07	10	23	6	28	0
68	M	F	36,9	48	LMCIPC	16	13	1,67	1,96	75,15	42,97	26,63	9,46	0	0	0	0	0	21	0,8	4,5	0	1	5	13	0
73	M	M	43,8	32	LMCIPC	16	NA	0,89	2,06	46,54	18,56	21,38	5,43	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12,2	5,7	18	73	31	24	587,5
76	M	M	25,2	20	LMAlree	25	NA	0,62	1,89	62,98	37,27	13,09	3,33	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7,1	4,35	NA	341	75	31	750
77	F	M	38,8	45	LMCIPC	16	15	1,1	2,91	101,02	51,29	46,08	2,75	90	0	2	Ext	712	29	1,4	1,37	8	25	5	12	0
82	M	M	43	35	LMCIPC	15	10	0,93	2,51	65,54	36,37	26,85	1,37	0	0	0	L	211	21	1	1,5	11	15	1	11	0
84	M	M	36,6	43	LLAIRC	13	13	0,94	2,56	78,14	41,23	34,11	8,11	0	0	0	L	278	18	1,1	1	11	9	4	8	0
86	M	M	35,7	37	LMCIPC	20	14	1,29	3,23	29,94	23,12	9,9	17,43	0	0	0	L	188	26	0,9	1,4	17	3	3	17	0
87	M	F	48,5	60	LMC CB	22	19	1,24	2,87	94,48	51,57	42,6	9,82	21	0	4	NA	NA	NA	10,6	2,36	33	35	13	26	550
88	M	F	37,8	31	SMDarab	15	19	NA	2	NA	NA	NA	NA	0	0	0	Ext	233	34	2,8	1,17	15	28	5	21	0
93	M	F	17,4	16	LMCIPC	24*	28*	0,75	1,65	91,92	48,73	29,08	5,09	NA	NA	NA	NA	NA	69	2,6	0,9	0	139	22	41	0
95	F	F	29,9	32	LMCIPC	NA	18	1,02	2,97	87,83	49,92	37,87	5,64	0	0	0	L	138	29	4,4	0,9	0	8	7	26	0
101	M	F	27,6	21	LMCIPC	28	40	0,73	1,55	76,17	32,55	31,62	3,05	0	0	0	Ext	349	48	1,8	1,42	12	25	13	41	0
102	M	F	23	19	LMAlree	29	26	0,7	1,54	99,33	57,96	44,72	6,92	0	0	0	0	0	32	1,2	1,09	0	10	5	22	0
107	M	F	42,5	37	LMC CB	18	21	1,16	2,3	41	28,65	16,97	1,19	60	0	4	Ext	100	27	3,5	1,24	9	23	5	25	0
109	M	M	27	27	LNH AG	13	16	1,55	3,41	122,43	64,32	57,8	8,32	0	0	0	0	0	19	3,4	1,35	4	2	2	14	0
113	M	F	46,2	42	NM refr	18	21	1,47	2,99	157,27	52	97,48	3,28	0	0	0	0	0	26	1,2	1,78	12	6	3	16	187

SxP = sexo Paciente

SxD = sexo Doador

IdaP = idade Paciente

IdaD = idade Doador

13 de fevereiro de 1998

UPN	Dt Diag	Dt TMO	Dt Óbito	CausaOb	Dt Relap	Status	Hoje(Óbito)-Dx	Hoje(Óbito)-Tx	DtFup
50	21/Out/94	02/Mar/95	17/Jul/96	Recid	15/Ago/95	Morto	635	503	17/Jul/96
54	26/Jul/94	06/Abr/95				Vivo	1298	1044	13/Fev/98
64	01/Set/94	06/Jul/95	19/Mar/96	Recid	26/Dez/95	Morto	565	266	19/Mar/96
68	27/Jul/94	10/Ago/95				Vivo	1297	918	13/Fev/98
73	03/Jul/87	09/Nov/95	05/Dez/95	VOD		Morto	3077	26	05/Dez/95
76	03/Nov/94	11/Jan/96	19/Fev/96	Cistite Hemorrágica		Morto	473	39	19/Fev/96
77	18/Abr/95	25/Jan/96			.	Vivo	1032	750	13/Fev/98
82	24/Abr/95	04/Abr/96				Vivo	1026	680	13/Fev/98
84	15/Dez/95	25/Abr/96				Vivo	791	659	13/Fev/98
86	14/Mar/95	23/Mai/96				Vivo	1067	631	13/Fev/98
87	19/Jan/95	20/Jun/96	23/Jul/96	DECHa		Morto	551	33	23/Jul/96
88	22/Ago/95	27/Jun/96	20/Mar/97	DECHc		Morto	576	266	20/Mar/97
93	22/Jul/95	22/Ago/96				Vivo	937	540	13/Fev/98
95	01/Jun/95	05/Set/96				Vivo	988	526	13/Fev/98
101	15/Nov/93	21/Nov/96				Vivo	1551	449	13/Fev/98
102	15/Jun/96	28/Nov/96				Vivo	608	442	13/Fev/98
107	27/Mar/96	06/Mar/97	26/Jun/97	DECHc		Morto	456	112	26/Jun/97
109	22/Fev/94	03/Abr/97	15/Ago/97	CMV		Morto	1613	134	15/Ago/97
113	25/Out/95	08/Mai/97	23/Dez/97	Sepsis bacte		Morto	790	229	23/Dez/97

UPN	SxP	SxD	IdaP	IdaD	Diagn	Gran	Plaq	TotMo x 10 ⁸	TotNu x 10 ⁸	CD3 x 10 ⁶	CD4 x 10 ⁶	CD8 x 10 ⁶	CD34 x 10 ⁶	Dia DECHa	DECHa 0 - I	DEa II-IV	Dia DEC	DEC L/Ex	Alta dias	Bili Max	Cr Max	NPP dias	Plaq	Hem	Antib dias	Anfo Mg
49	M	F	26,7	21	LMCFA	16	12	3,78	11,39	500,68	274,18	190,49	12,43	11	0	4	NA	NA	42	4,8	1,25	36	12	11	28	350
51	M	F	31,9	33	LMArefr	20	13	4,22	7,38	NA	NA	NA	NA	22	0	2	377	Ext	22	1,6	1,26	3	35	8	17	0
52	F	F	16,4	14	LMA2rec	15	13	3,62	9,78	235,57	153,89	86,43	8,1	0	0	0	0	0	18	5,5	0,79	0	24	6	21	0
55	M	F	31,2	30	LMC1FC	12	11	2,89	5,51	465,01	322,04	112,86	3,08	12	1	0	184	Ext	18	1,6	1,15		15	2	13	0
57	M	F	31,2	30	LMA1rec	11	9	3,21	10,33	187,39	23,6	57,59	2,57	11	0	2	0	0	16	1,6	1,12	8	7	8	15	105
59	M	F	29,9	22	LMC1FC	15	12	3,35	10,02	543,49	394,89	161,41	2,29	0	0	0	233	Ext	20	1,5	1,35	9	13	4	9	0
62	M	F	47,8	46	SMDAR	12	10	5,41	21,02	374,61	184,41	127,48	71,61	13	1	0	304	Ext	30	1,0	1,3	5	4	6	21	0
63	F	F	40,9	42	LMC1FC	14	11	4,6	8,91	492,8	383,99	98,71	14,14	0	0	0	321	Ext	18	1,22	0,92	5	12	2	10	0
66	M	M	40,1	29	LMC1FC	15	13	3,94	12,83	644,75	412,15	217,53	16,33	0	0	0	270	Ext	20	0,9	1,55	10	7	3	10	0
71	M	M	41,2	36	MM refr	NA	NA	2,04	5,84	486,62	184,7	118,83	11,92	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7,2	2,22	10	34	6	10	0
97	F	F	19,3	30	LMA1rec	NA	NA	2	2,2	182,54	99,56	54,4	4,16	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2,0	1,12	20	19	8	23	375
105	M	M	30,7	31	LMC1FC	17	11	2,5	3,45	236,04	144,46	88,11	13,8	0	0	0	361	Ext	19	1,8	1,10	0	4	2	13	0
112	M	F	29,1	36	LMC1FC	19	19	2,66	3,21	251,93	131,27	68,66	2,86	0	0	0	219	Ext	21	1,3	1,61	0	12	4	21	0
114	M	F	51,5	60	MM refr	22	NA	2,67	3,81	262,21	154,52	45,75	1,25	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8,3	3,84	18	22	12	22	490
118	F	F	21	29	LMC1FC	19	23	2,1	2,4	188,4	104,47	70,44	1,88	26	0	3	159	Ext	23	1,2	0,87	0	19	4	15	0
125	F	F	26	28	LMC1FC	25	36	2,94	4,22	317	130	109	9,7	0	0	0	0	0	38	6,5	1,77	28	44	4	32	825
126	F	M	9	16	LMC1FC	16	11	3,2	4,58	160,67	94,54	54,73	4,71	0	0	0	130	Ext	26	1,6	1,13	10	5	3	16	120
127	M	M	15	20	LMA1rec	19	13	3,62	5,11	344,19	195,07	97,36	1,86	0	0	0	0	0	22	2,7	0,85	9	12	2	26	0

SxP = sexo Paciente
SxD = sexo Doador
IdaP = idade Paciente
IdaD = idade Doador

UPN	Dt Diag	Dt TMO	Dt Óbito	CausaOb	Dt Relap	Status	Hoje(óbito)-Dx	Hoje(óbito)-Tx	DtFUP
49	15/Set/92	23/Fev/95	20/Mai/95	DECHa		Morto	977	86	20/Mai/95
51	14/Jun/94	02/Mar/95				Vivo	1340	1079	13/Fev/98
52	24/Abr/90	23/Mar/95	12/Set/95	Recid	21/Ago/95	Morto	1967	173	12/Set/95
55	21/Set/94	20/Abr/95	24/Dez/95	DECHc		Morto	459	248	24/Dez/95
57	26/Jul/94	04/Mai/95	20/Out/95	Recid	15/Ago/95	Morto	451	169	20/Out/95
59	17/Mai/94	18/Mai/95	31/Jan/96	DECHc		Morto	624	258	31/Jan/96
62	10/Mai/88	08/Jun/95				Vivo	3566	981	13/Fev/98
63	21/Out/94	22/Jun/95				Vivo	1211	987	13/Fev/98
66	01/Jul/94	20/Jul/95				Vivo	1323	939	13/Fev/98
71	15/Dez/94	09/Out/95	19/Out/95	Sepsis		Morto	308	10	19/Out/95
97	18/Jun/93	17/Out/96	10/Nov/96	Progressão	30/Out/96	Morto	1241	24	10/Nov/96
105	31/Jan/96	30/Jan/97				Vivo	744	379	13/Fev/98
112	15/Mar/96	28/Abr/97				Vivo	700	291	13/Fev/98
114	15/Jul/96	15/Mai/97	06/Jun/97	Sepsis bacte		Morto	326	22	06/Jun/97
118	03/Dez/96	03/Jul/97				Vivo	437	225	13/Fev/98
125	07/Abr/93	11/Set/97				Vivo	1773	155	13/Fev/98
126	02/Out/96	25/Set/97				Vivo	499	141	13/Fev/98
127	28/Nov/95	16/Out/97				Vivo	808	120	13/Fev/98

Características dos Doadores e da Coleta de CPP

UPN	Vol. ml	HT	Leuc	Plaq	HT	Leuc	Plaq	HT	Leuc	Plaq
	Process	Pré Afereze	Pré Afereze	Pré Afereze	Pós Afereze	Pós Afereze	Pós Afereze	Pós Afereze	Pós Afereze	Pós Afereze
49	16376	38,7	58300	355000	39,5	67700	112000			
51	28500	37,3	28100	149000	34,2	17700	58000			
52	12000	47,2	62500	197000	40,9	59300	72000			
55	14492	34,8	34200	253000	35,8	36800	100000			
57	9400	38,1	34800	369000	40,1	61000	140000			
59	12000	40,3	37600	255000	38,5	35700	72000			
62	12000	42,5	48800	156000	46,2	48700	58000			
63	14000	48,1	50800	303000	49,7	49500	68000			
66	13500	47,6	38900	247000	42,3	37200	70000			
71	20000	44,9	26900	214000	47	42800	127000			
97	9841	41,5	50600	288000	35,3	39800	217000			
105	12342	50,4	27300	218000	43,5	32100	144000			
112	12045	38	20200	206000	31,8	14700	126000			
114	12000	40,2	28500	331000	33,5	34000	175000			
118	12042	38	29300	268000	36,5	36300	197000			
125	21090	40,5	12300	154000	28,7	17800	84000			
126	10549	42,7	18400	232000	42,4	30000	188000			
127	9942	44	27700	186000	39,5	33900	134000			