Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Departamento de Clínica Médica

ALINE CRISTINA GARCIA SILVA

**Influência do esquema de mobilização de células progenitoras hematopoéticas
no produto da aférese e nas reações adversas no receptor**

Ribeirão Preto
2019

ALINE CRISTINA GARCIA SILVA

**Influência do esquema de mobilização de células progenitoras hematopoéticas
no produto da aférese e nas reações adversas no receptor**

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Programa de Mestrado Profissional em Hemoterapia e Biotecnologia.

Área de Concentração: Terapia Celular.

Orientador: Dr. Gil Cunha De Santis

Ribeirão Preto
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo

G216i

Garcia-Silva, Aline Cristina

Influência do esquema de mobilização de células progenitoras hematopoéticas no produto da aférese e nas reações adversas no receptor- Ribeirão Preto, 2019.

67f.: il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

Programa de Mestrado Profissional em Hemoterapia e Biotecnologia.
Área de concentração: Terapia Celular.

Orientador: De Santis, Gil Cunha

1. Transplante Autólogo 2. Célula Progenitora Hematopoética 3. Mobilização
4. Infusão 5. Reações adversas. I. Título.

Nome: GARCIA-SILVA, Aline Cristina

Título: Influência do esquema de mobilização de células progenitoras hematopoéticas no produto da aférese e nas reações adversas no receptor

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa de Mestrado Profissional em Hemoterapia e Biotecnologia, Área de Concentração: Terapia Celular.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

APOIO E SUPORTE FINANCEIRO

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro das seguintes entidades e instituições:

1. Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP).
2. Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da FMRP – USP.

Primeiramente dedico este trabalho a meus pais, Maria e Osvaldo, exemplos de pessoas simples e honestas que sempre me incentivaram a dar o meu melhor e melhorar sempre.

A todos os meus verdadeiros amigos que estiveram ao meu lado estimulando-me incansavelmente para que eu não desistisse.

Por último dedico esse humilde trabalho ao grande cientista Prof. Dr. Júlio César Vottarelli que foi minha inspiração na ciência, motivação para nunca desistir e que me mostrou que através da simplicidade é possível realizar grandes feitos.

Aline

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente ao Prof. Dr. Gil Cunha De Santis por ter confiado a mim a realização deste projeto, pela sua generosidade e paciência em compartilhar seus conhecimentos e que, muitas vezes, desenhava para que eu compreendesse melhor. Fui uma pessoa de grande sorte por tê-lo como meu orientador, pois até hoje eu nunca pude encontrar um ser tão fantasticamente intelectual e ao mesmo tempo dotado de simplicidade e modéstia. Eu não tenho palavras para expressar o tamanho de minha gratidão por ele.

Ao Dr. Benedito de Pina Almeida Prado Júnior por ter participado ativamente concedendo dados que são verdadeiras relíquias, estimulado meu desenvolvimento intelectual, por ter acreditado na minha capacidade e pelas brincadeiras de corredores sempre com ótimo humor procurando encorajar-me.

À minha amiga Dra. Giuliana Martinelli Dotoli, deixo a registrada eterna gratidão por ter aceito o desafio de me ajudar no desenvolvimento do trabalho, por ter dedicado horas, dias, meses em me ajudar de qualquer forma que fosse. Muitas vezes fazíamos rascunhos juntas, tentávamos aprender e a compreender tudo aquilo a nossa frente, sempre juntas. Viverei uma vida toda e não serei capaz de retribuir à altura.

Sem meus amigos, nada seria possível: Éverton, Dudu, Roberta, Pâmela, Thaís, Karina, Carol, Danny, Patty e Samukka. Vocês foram o esteio que me manteve de pé quando eu tinha absoluta certeza que iria sucumbir.

A meu universo: meus pais, meu irmão e a Deus... Devo minha vida, tudo que tenho e sou.

Ao meu amado Jonatan por ter suportado meu desespero, mau humor, por ter enxugado minhas lágrimas e sempre ter acreditado em mim.

À minha turma do mestrado “Quequel’s Crazy Team”, vocês foram o meu combustível! Minha segunda família! Vocês são simplesmente os melhores.

Agradeço de coração a todos que contribuíram de alguma maneira.

Aline

“A grandeza não é onde permanecemos, mas em qual direção estamos nos movendo.

Devemos navegar algumas vezes com o vento e outras vezes contra ele, mas devemos navegar, e não ficar à deriva, e nem ancorados. “

Oliver Wendell Holmes

Oliver Wendell Holmes (1809 a 1894) foi um escritor americano, médico e professor de medicina e um dos mais importantes reformadores médicos da sua época. Foi reitor da Faculdade de Medicina de Harvard de 1847 a 1853, e muito conhecido por escrever versos e poesias.

RESUMO

GARCIA-SILVA, Aline Cristina. **Influência do esquema de mobilização de células progenitoras hematopoéticas no produto da aférese e nas reações adversas no receptor.** 2019. 67f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP), Ribeirão Preto, 2019.

O transplante autólogo de células progenitoras hematopoéticas (CPH) requer a mobilização dessas células da medula óssea para o sangue periférico, de onde são coletadas. Essa mobilização pode ser realizada com a administração de filgrastima (G-CSF do inglês, *granulocyte-colony stimulating factor*) de forma isolada ou associada à quimioterapia (G-CSF / QT). Os produtos de CPH obtidos por esses dois métodos de mobilização apresentam diferenças no conteúdo celular, o que poderia resultar em diferentes desfechos clínicos, como recuperação hematológica e reações adversas (RA) à infusão do produto. Este estudo retrospectivo teve como objetivo avaliar as taxas de RA da infusão do produto de acordo com o tipo de mobilização celular, ou seja, G-CSF isolado ou associado à quimioterapia. Desenho do estudo / Método: Um total de 611 pacientes com linfoma ou mieloma múltiplo (MM) foram submetidos a mobilização e coleta de CPH para transplante autólogo nos últimos 15 anos, destes 267 utilizaram G-CSF e 344 G-CSF / QT (285 dos quais foram submetidos ao transplante em nossa instituição). O procedimento de aférese resultou em 2 bolsas (100 mL cada), conforme padronização local, que foram criopreservadas com DMSO a 10% mantidas em recipiente de nitrogênio líquido até serem descongeladas e infundidas. As RA avaliadas foram náusea / vômito, diarreia, arritmia, dispneia e anormalidades neurológicas (cefaleia e encefalopatia) (5 possibilidades de RA para cada paciente) durante a infusão celular ou logo após o seu término. Resultados: A mediana (faixa) de idade foi de 54 (46-60) e 41 (29-55) anos para os grupos G-CSF e G-CSF / QT, respectivamente ($p < 0,0001$). O pico de células CD34 + / μL foi de 16,6 (8,88 - 29,18) e 31,1 (16,15 - 71,9) para os grupos G-CSF e G-CSF / QT, respectivamente ($p < 0,0001$). Os produtos obtidos no grupo G-CSF continham um número maior de granulócitos ($\times 10^8/\text{mL}$): 155,2 (113,2–205,1) vs 114,4 (68,31–178,2) ($p < 0,0001$) e plaquetas ($\times 10^8 / \text{mL}$): 1.590 (1010-2190) vs 392 (209,5-800) ($p < 0,001$). O grupo G-CSF recebeu infusão de uma dose maior de DMSO (g/kg): 0,21 (0,14-0,57) vs 0,17 (0,11-0,71) ($p = 0,012$) e uma dose inferior de células CD34 ($\times 10^6 / \text{kg}$): 3,28 (2,46 -3,99) vs 3,72 (2,58-5,48) ($p < 0,0001$). A recuperação hematológica (neutrófilos $\geq 500 / \mu\text{L}$) ocorreu nos dias 12 (11-14) e 11 (10-12) nos grupos G-CSF e G-CSF +QT, respectivamente ($p < 0,0001$). As RA ocorreram em 58,27% e 50,94% dos pacientes dos grupos G-CSF e G-CSF / QT, respectivamente ($p = 0,234$), entretanto, o número de reações foi de 132 (em 635 possibilidades) e 126 (em 795 possibilidades) nos grupos G-CSF e G-CSF / QT, respectivamente ($p = 0,016$). Nos pacientes que receberam ≥ 2 bolsas de CPH (e dose semelhante de DMSO), observou-se maior número de RA no grupo G-CSF (122 vs 75, $p = 0,02$). O sexo feminino foi associado a uma maior taxa de náusea/vômito (23,84% vs 46,49%, $p = 0,0001$). Conclusão: a mobilização de CPH com G-CSF isoladamente, apesar de apresentar muitas vantagens, resulta em maior número de células indesejáveis, como granulócitos e plaquetas no produto final, o que poderia explicar, pelo menos em parte, a maior taxa de reações adversas observada durante a infusão celular, além de resultar em menor número de células CD34, com consequente recuperação hematológica ligeiramente mais tardia. Palavras-chave: Transplante Autólogo. Célula Progenitora Hematopoética. Mobilização. Infusão. Reações Adversas.

ABSTRACT

GARCIA-SILVA, Aline Cristina. **Influence of the hematopoietic progenitor cell mobilization scheme on the apheresis product and adverse reactions in the recipient.** 2019. 67 f. Thesis (Master's Degree) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP), Ribeirão Preto, 2019.

Autologous hematopoietic progenitor cell (HCP) transplantation requires the mobilization of these cells from the bone marrow into the peripheral blood from which they are collected. Such mobilization may be performed with the administration of filgrastim (granulocyte-colony stimulating factor) alone or in combination with chemotherapy (G-CSF / CT). The HPC products obtained by these two methods of mobilization present differences in cellular content, which could result in different clinical outcomes, such as hematological recovery and adverse reactions (RA) to infusion of the product. This retrospective study aimed to evaluate the RA rates of infusion of the product according to the type of cellular mobilization, in other words, G-CSF isolated or associated with chemotherapy. A total of 611 patients with lymphoma or multiple myeloma (MM) underwent mobilization and collection of MCH for autologous transplantation in the last 15 years, of which 267 used G-CSF and 344 G-CSF / CT (285 of which were transplanted at our institution). The apheresis procedure resulted in 2 pockets (100 mL each), according to local standardization, which were cryopreserved with 10% DMSO kept in a liquid nitrogen container until thawed and infused. The RAs evaluated were nausea / vomiting, diarrhea, arrhythmia, dyspnea and neurological abnormalities (headache and encephalopathy) (5 possibilities of RA for each patient) during the cellular infusion or soon after its completion. Results: The median age range was 54 (46-60) and 41 (29-55) years for the G-CSF and G-CSF / CT groups, respectively ($p < 0.0001$). The CD34 + / μL peak was 16.6 (8.88 - 29.18) and 31.1 (16.15 - 71.9) for the G-CSF and G-CSF / CT groups, respectively ($p < 0.0001$). The products obtained in the G-CSF group contained a greater number of granulocytes ($\times 10^8$ / mL): 155.2 (113.2-205.1) vs 114.4 (68.31-178.2) ($p < 0.0001$) and platelets ($\times 10^8$ / mL): 1590 (1010-2190) vs 392 (209.5-800) ($p < 0.001$). The G-CSF group received infusion of a higher dose of DMSO (g / kg): 0.21 (0.14-0.57) vs 0.17 (0.11-0.71) ($p = 0.012$) and a lower dose of CD34 cells ($\times 10^6$ / kg): 3.28 (2.46 -3.99) vs 3.72 (2.58-5.48) ($p < 0.0001$). Haematological recovery (neutrophils ≥ 500 / μL) occurred on days 12 (11-14) and 11 (10-12) in the G-CSF and G-CSF / QT groups, respectively ($p < 0.0001$). The RAs occurred in 58.27% and 50.94% of patients in the G-CSF and G-CSF / CT groups, respectively ($p = 0.234$), however, the number of reactions was 132 (in 635 possibilities) and 126 (in 795 possibilities) in the G-CSF and G-CSF / CT groups, respectively ($p = 0.016$). In patients receiving ≥ 2 pockets of MHC (and similar dose of DMSO), there was a greater number of RAs in the G-CSF group (122 vs 75, $p = 0.02$). The female sex was associated with a higher rate of nausea / vomiting (23.84% vs 46.49%, $p = 0.0001$). Conclusion: mobilization of CPH with G-CSF alone, despite having many advantages, results in a higher number of undesirable cells, such as granulocytes and platelets in the final product, which could explain, at least in part, the higher rate of adverse reactions observed during the cellular infusion, in addition to resulting in a smaller number of CD34 cells, with consequent slightly later hematological recovery.

Keywords: Autologous transplantation. Hematopoietic Progenitor Cell. Mobilization. Infusion. Adverse reactions.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mobilização das células progenitoras hematopoéticas.	20
Figura 2 - Estratégia de seleção celular para a quantificação das células CD34+ através do protocolo ISHAGE, plataforma dupla.	22
Figura 3 - Tipos de lesão durante a criopreservação celular.	23
Figura 4 - Passo a passo TCPH autólogo.	24
Figura 5. Coleta de CPH na máquina Cobe Spectra® versão 6 no setor de Aférese do Hemocentro de Ribeirão Preto.	29
Figura 6. Bolsa com produto de CPH coletado por aférese.	30
Figura 7. Bolsa com produto CPH descongelada para a infusão.	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características basais dos pacientes no dia da coleta do produto celular de acordo com o esquema de mobilização.	35
Tabela 2 - Características do produto celular coletado, de acordo com a mobilização.	37
Tabela 3 – Dose de células CD34 e dia da enxertia (neutrófilos $\geq 500/\mu\text{L}$).	40
Tabela 4 - Reações adversas de acordo com o esquema de mobilização.	41
Tabela 5 - Reações adversas de acordo com o esquema de mobilização em pacientes que receberam 2 ou mais bolsas de CPH criopreservadas.	42
Tabela 6 - Frequência de náusea e vômito de acordo com o sexo.	42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Características dos padrões hematológicos dos pacientes de acordo com o esquema de mobilização.....	36
Gráfico 2 - Composição do produto celular de acordo com o esquema de mobilização.	38
Gráfico 3. Volume do produto coletado x dose DMSO infundida.	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
µL	Microlitro
ACD-A	Ácido Citrato Dextrose Solução A
CD34 ⁺	Marcador Fenotípico Da Célula Progenitora Hematopoética
CEP	Comitê De Ética Em Pesquisa
CNT	Células Nucleadas Totais
CPH	Células Progenitoras Hematopoéticas
CXCR-4	<i>C-X-C Chemokine Receptor Type 4</i>
DH	Doença De Hodgkin
dL	Decilitro
DMS	Sulfeto De Dimetila
DMSO	Dimetilsulfóxido
FSC	<i>Forward Scatter</i> - Dispersão Frontal De Luz
g	Grama
GB	Glóbulos Brancos
G-CSF	<i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>
Hb	Hemoglobina
HC-FMRP-USP	Hospital Das Clínicas Da Faculdade De Medicina De Ribeirão Preto Da Universidade De São Paulo
LNH	Linfoma Não Hodgkin
LTBV	Volemia Total De Sangue Em Litros
mg	Miligrama
mL	Mililitro
MM	Mieloma Múltiplo
mm	Milímetro
QT	Quimioterapia
RA	Reações Adversas
RCF	Força Centrífuga Relativa
SDF-1	<i>Stromal Cell-Derived Factor 1</i>
SSC	<i>Side Scatter</i> - Dispersão Frontal De Luz
TCPH	Transplante De Células Progenitoras Hematopoéticas
UPC	Unidade De Pesquisa Clínica

VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Protein 1
VLA-4	Very Late Antigen-4

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	JUSTIFICATIVA	25
3	OBJETIVOS	26
3.1	Objetivo geral.....	26
3.2	Objetivos específicos	26
4	HIPÓTESES.....	27
5	Materiais e métodos	28
5.1	Comitê de ética em pesquisa.....	28
5.2	Pacientes	28
5.3	Mobilização, coleta, quantificação e criopreservação de CPH	28
5.4	Infusão do produto de CPH	32
5.5	Análise estatística.....	34
6	RESULTADOS	35
6.1	Pacientes	35
6.2	Produto	37
6.3	Impacto clínico	39
6.3.1	Dose de células CD34 infundidas e recuperação da hematopoese	39
6.3.2	Reações adversas	40
6.3.2.1	Reações adversas de acordo com o esquema de mobilização.	41
7	DISCUSSÃO	44
8	CONCLUSÕES	47
9	REFERÊNCIAS.....	48
10	ANEXOS	53
10.1	Anexo I.....	53
10.2	Anexo II.....	57
10.3	Anexo III.....	63

10.4 Anexo IV65

1 INTRODUÇÃO

O transplante autólogo de células progenitoras hematopoéticas (TCPH) é amplamente empregado há aproximadamente três décadas no tratamento de desordens hematológicas e tumores sólidos (BOJANIC et al., 2008; SARACENI et al., 2015). Dentre as doenças hematológicas, destacam-se o mieloma múltiplo (MM) e os linfomas de Hodgkin (DH) e não Hodgkin. Para essas neoplasias, o transplante é a terapia padrão. (JANTUNEN; FRUEHAUF, 2011; SILVENNOINEN et al., 2016). Um ponto importante na história do TCPH é o aumento da utilização do sangue periférico mobilizado como fonte substituta a da medula óssea (MO) (MENDRONE JUNIOR, 2009; PASQUINI et al., 2010; VIGORITO; DE SOUZA, 2009). A coleta das células progenitoras hematopoéticas (CPH) do sangue periférico mobilizado com fator de crescimento é mais conveniente em relação à coleta de MO por ser mais rápida e evitar um procedimento sob anestesia, o qual envolve múltiplas punções em crista ilíaca. Trata-se ainda de um procedimento reconhecidamente seguro a curto prazo, com raras reações graves, embora as reações a longo prazo não sejam bem estabelecidas (KOLB, 2015).

A coleta das CPH do sangue periférico é realizada através de máquinas separadoras após o paciente ser submetido ao regime de mobilização. A mobilização decorre de processos simultâneos de expansão da população de células-tronco e dos progenitores hematopoéticos, além de diversas alterações no nicho para liberação dessas células da medula óssea para o sangue periférico (BOING; PAPAYANNOPOULOU, 2012). O regime de mobilização consiste na administração de um tipo de fator de crescimento, como o G-CSF (do inglês, *granulocyte-colony stimulating factor*), atualmente o mais amplamente utilizado, associado ou não a um ou mais agentes quimioterápicos por um período determinado (GAZITT, 2002). Em dezembro de 2008, uma nova droga foi aprovada nos Estados Unidos pelo FDA (*Food and Drug Administration*) como agente de mobilização das CPH associado ao G-CSF em pacientes com mieloma múltiplo e linfoma não Hodgkin, o plerixafor (AMD3100) comercialmente disponível com o nome Mozobil® pela Sanofi Genzyme (Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos). Este fármaco atua como antagonista de ação reversível na ligação das moléculas de superfície CXCR4 das CPH e SDF-1 da matriz extracelular da medula óssea

(MOTABI; DIPERSIO, 2012). Esse último esquema de mobilização não será avaliado neste estudo devido ao elevado custo para obtenção do plerixafor.

De uma maneira geral, os agentes envolvidos no esquema de mobilização atuam desfazendo de forma reversível a ligação das moléculas de adesão das células progenitoras hematopoéticas com as células do estroma e da matriz extracelular da medula óssea, como: CXCR4 e SDF-1, VLA-4 e VCAM-1, entre outros (Figura 1) (CASHEN; LAZARUS; DEVINE, 2007; MOTABI; DIPERSIO, 2012).

Figura 1 - Mobilização das células progenitoras hematopoéticas.

A. Esquema de moléculas de adesão entre a CPH e as células endoteliais da MO. **B.** Ação do G-CSF nas moléculas de adesão da CPH e sua mobilização. Fonte: adaptada (VOSE et al., 2009)

O regime de mobilização é definido pela equipe transplantadora, que considera aspectos clínicos dos pacientes e da doença tratada, bem como os custos envolvidos. Atualmente, há uma preferência pela mobilização sem quimioterapia (QT), devido a algumas desvantagens clínicas, inclusive financeiras. Uma das desvantagens clínicas é que a quimiomobilização (QT / G-CSF) está associada a complicações como neutropenia e trombocitopenia, as quais aumentam os riscos de internação por complicações infecciosas e hemorragia, assim como o tempo de

mobilização, o que torna menos previsível a data da coleta das CPH (SHEPPARD et al., 2012). Por outro lado, as vantagens do regime QT / G-CSF são: menor índice de falha na mobilização e um maior número de células CD34⁺ mobilizadas e coletadas. Quando a mobilização é feita com a associação do G-CSF e QT, ocorre uma fase de neutropenia e plaquetopenia, que poderá ser mais ou menos intensa dependendo do agente quimioterápico empregado assim como de sua dose. Após essa fase, ocorre a recuperação, que, em seu início, caracteriza-se por um aumento significativo da concentração de células CD34⁺. Enquanto na mobilização apenas com o G-CSF não ocorre a neutropenia, mas sim, a neutrofilia, que se reflete no conteúdo celular do produto, ou seja, em maior número de neutrófilos e de plaquetas (PUSIC et al., 2008). Diante desse contexto, cada instituição emprega estratégias adaptadas a sua disponibilidade de recursos. Há um consenso na literatura de que nenhum padrão foi estabelecido ou um regime eleito como ideal (DUONG et al., 2014; MOHTY et al., 2014).

Durante o protocolo de tratamento dos pacientes de nossa Instituição, é monitorado o número de glóbulos brancos de cada um, que ao atingir um valor igual ou superior a 1.000/ μ L, realiza-se a quantificação das células CD34⁺ por citometria de fluxo através do protocolo ISHAGE- International Society for Hematotherapy and Graft Engineering (PASTORE et al., 2004; SUTHERLAND et al., 1996; WHITBY et al., 2012) plataforma dupla (Figura 02). Na maioria dos casos, quando as células CD34⁺ circulantes atingem uma concentração ≥ 10 células/ μ L, inicia-se a coleta por aférese das CPH, com o objetivo de coletar uma dose mínima de 2 a 5 x 10⁶ células CD34⁺/ μ L. Em alguns casos, quando se trata de pacientes classificados como maus mobilizadores (CD34⁺ < 10/ μ L), mais de um procedimento de coleta poderá ser necessário a fim de atingir a dose mínima de células CD34⁺ necessária ao transplante (HERBERT et al., 2011; MENDRONE et al., 2008).

Figura 2 - Estratégia de seleção celular para a quantificação das células CD34+ através do protocolo ISHAGE, plataforma dupla.

Fonte: adaptada (PAULA et al., 2009)

No TCPH autólogo, uma vez coletada as células, o procedimento de criopreservação desse produto celular torna-se praticamente obrigatório devido sua complexidade logística e principalmente a manutenção da viabilidade celular. Por este motivo, o produto deve ser criopreservado com emprego de uma substância crioprotetora, o dimetilsulfóxido – DMSO (Me_2SO)(JACOB; HERSCHLER, 1986), um agente penetrante que diminui a ocorrência de lise ou desidratação celular quando combinado com a velocidade de congelamento ideal (DE SANTIS; PRATA, 2009). No interior da célula, o DMSO liga-se às moléculas de água, o que bloqueia seu efluxo, impedindo assim a desidratação celular durante o congelamento (Figura 3). Portanto, o DMSO é importante para evitar a formação de cristais de gelo no interior das células (SMAGUR et al., 2013).

Figura 3 - Tipos de lesão durante a criopreservação celular.

Fonte: adaptada (DE SANTIS; PRATA, 2009)

O DMSO é conhecido por sua toxicidade e reações adversas (RA) que ocorrem durante a infusão de produtos celulares criopreservados, tais como reação anafilática, problemas respiratórios, disfunções renal e hepática, bem como complicações cardíacas, náuseas e vômitos. Em particular, a toxicidade neurológica, incluindo a encefalopatia, tem sido descrita como um evento grave. O DMSO remanescente é transformado em sulfeto de dimetila (DMS), que é exalado e associado a um odor característico (SMAGUR et al., 2013). Ainda não está bem estabelecida a relação entre a dose infundida de DMSO e a ocorrência de RA (BOJANIC et al., 2008).

Finalmente, a infusão das CPH criopreservadas ocorre no paciente após administração do regime de condicionamento (Figura 4). O regime de condicionamento, que é definido pelo centro transplantador, consiste na administração de altas doses de um agente quimioterápico ou na associação de vários agentes em um período que varia, em geral, de 4 a 7 dias. Alguns agentes utilizados no regime de condicionamento são: melfalano, busulfano, ciclofosfamida, etoposídeo, citarabina, entre outros. O regime de condicionamento por si só sujeita o paciente a inúmeros eventos adversos, tais como: náusea e vômito, mucosite, pancitopenia e entre outros.

A infusão de CPH requer o descongelamento da bolsa à beira do leito (preferencialmente) ou no laboratório. Além disso, essa infusão deve ser realizada de acordo com a tolerância do paciente à ocorrência das RA, as quais podem

ocorrer por diversos fatores como, a dose de DMSO infundida (o que não está bem estabelecida), a composição celular do produto ou o agravamento de sintomas já apresentados previamente devido à quimioterapia do regime de condicionamento. Portanto, mais estudos são necessários para investigar as causas das RA nas infusões de produtos celulares, no caso específico deste trabalho, as CPH.

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo investigar se há diferença na composição do produto celular coletado mediante dois tipos de regime de mobilização, assim como seu eventual e um possível impacto clínico.

Figura 4 - Passo a passo TCPH autólogo.

Fonte: adaptado (SELLE et al., 2014)

Observação: os resultados deste estudo foram apresentados no congresso internacional “AABB Annual Meeting 2018” em formato de poster e seu resumo impresso na revista “Transfusion” 2018, volume 58, suplemento 2. A publicação encontra-se anexa em seção específica.

2 JUSTIFICATIVA

Considerando os regimes de mobilização prevalentes em nosso serviço sendo, um com o emprego isolado de G-CSF e outro com a associação entre esse agente e alguma substância quimioterápica, pressupomos essencial verificar possíveis diferenças no produto obtido com cada um dos esquemas e seu eventual impacto clínico no receptor, especialmente no que diz respeito à frequência e à gravidade das reações adversas, o que, até hoje não foi relatado na literatura.

Os resultados obtidos neste estudo poderão contribuir para que o transplante autólogo possa ocorrer de maneira mais segura e confortável para o paciente, além de proporcionar à equipe transplantadora um melhor monitoramento quanto às reações adversas apresentadas pelos pacientes durante ou logo após o término da infusão da CPH.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a possível diferença na característica do produto celular obtido pelos dois esquemas de mobilização estudados e o seu impacto nas reações adversas durante a infusão das CPH.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a composição celular nos produtos obtidos com os dois tipos de mobilização.
- Avaliar o conteúdo de hemoglobina nos dois tipos de produto.
- Avaliar eventual impacto na recuperação hematológica pós-transplante.
- Avaliar quantitativamente as reações adversas à infusão de CPH de acordo com os dois tipos de produto.

4 HIPÓTESES

- O produto coletado com G-CSF apresentaria características celulares diferentes como: maior concentração de glóbulos brancos, granulócitos e plaquetas em relação ao produto coletado a partir do emprego de G-CSF e quimioterapia na mobilização.
- Os pacientes submetidos ao esquema de mobilização apenas com G-CSF apresentariam um maior número de reações adversas na infusão em relação aos pacientes que utilizaram quimioterapia associada ao G-CSF.
- Os pacientes submetidos ao esquema de mobilização apenas com G-CSF apresentariam um atraso na recuperação da hematopoese em relação aos pacientes que utilizaram quimioterapia associada ao G-CSF, pois conteriam menor número de células CD34⁺.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Comitê de ética em pesquisa

Após a redação do projeto, seu cadastro foi realizado junto à Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP-USP) e encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos (CEP) do mesmo hospital por meio do cadastro na Plataforma Brasil, na qual foi atribuído um número CAAE 89608718.0.0000.5440. O projeto foi aprovado após sua apreciação pela equipe designada pelo CEP com o número do parecer de aprovação 2.689.673, anexo na seção específica desta dissertação.

5.2 Pacientes

Neste estudo retrospectivo, desenvolvido no Hemocentro de Ribeirão Preto e no HC-FMRP-USP, foram avaliados os registros de 613 pacientes com mieloma múltiplo e linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, com idade igual ou superior a 18 anos, submetidos ao transplante autólogo de CPH, entre os anos 1997 e 2017. Foram excluídos os pacientes com sorologia reagente para HIV ou que tiveram CPH (aqui identificadas por expressar o marcador CD34) mobilizadas com administração do agente plerixafor.

Dos 613 pacientes mobilizados, 285 foram efetivamente submetidos ao transplante de CPH no HCRP. Dessa análise, foram excluídos os dados obtidos de pacientes que receberam produto de CPH lavados, a fim de remover DMSO, hemoglobina livre e restos celulares (especificar quantos). A solicitação do procedimento de lavagem foi feita pelos médicos assistentes da equipe de transplante.

5.3 Mobilização, coleta, quantificação e criopreservação de CPH

A mobilização de células CD34⁺ foi realizada de acordo com dois esquemas específicos: o primeiro envolveu a administração isolada do fator de crescimento G-CSF (filgrastima) na dose de 10 µg/Kg/dia, enquanto o segundo consistiu na administração de G-CSF na dose de 5 a 10 µg/Kg/dia, após a administração de

agentes quimioterápicos mielotóxicos, principalmente a ciclofosfamida na dose de 2g/m^2 ou o esquema DHAP (dexametasona, citarabina e cisplatina).

Os pacientes foram submetidos à coleta de CPH por aférese quando o número de células CD34^+ no sangue periférico foi igual ou superior a $10/\mu\text{L}$, na maioria das vezes, conforme o padrão estabelecido na instituição (Figura 5). O procedimento de aférese foi realizado de maneira automatizada por máquinas separadoras, com a utilização de kits e protocolos específicos para o hemocomponente a ser coletado. Nosso serviço utilizou até julho de 2014 para a coleta das CPH, o Sistema Cobe Spectra® versão 6, protocolo *Stem Cell, Mononuclear Cell and Granulocyte Collection* e o kit de coleta WBC (do inglês, *white blood cell*) set 777006-000. Atualmente, as coletas são feitas com a Spectra Optia® versão 11 junto ao protocolo *Continuous Mononuclear Cell Collection* e o kit *Exchange Set* 10220. Ambos os equipamentos são da Terumo BCT (Lakewood, Colorado, Estados Unidos).

Os dados da coleta do produto de CPH foram registrados em formulários específicos do setor de aférese e do laboratório de processamento celular (Anexo II).

Figura 5. Coleta de CPH na máquina Cobe Spectra® versão 6 no setor de Aférese do Hemocentro de Ribeirão Preto.

Fonte: Hemocentro de Ribeirão Preto

Para a coleta, foi utilizada a solução anticoagulante para aférese ACD-A composta por glicose, ácido cítrico e citrato de sódio. A concentração de

anticoagulante utilizada foi de 0,8 a 1,2 mL de ACD-A/LTBV/min (LTBV = Volemia Total De Sangue Em Litros) com a finalidade de minimizar possíveis sintomas decorrentes da toxicidade do anticoagulante (razão de 1:12 de ACD-A para sangue total). Quando se faz necessário, o processamento de mais volemias para facilitar a coleta de dose mínima de células CD34⁺, usualmente 2 x 10⁶/Kg, a equipe médica da aférese pode utilizar heparina associada ao citrato, que tem sua concentração reduzida no procedimento de coleta, a fim de diminuir possível toxicidade causada por este último agente anticoagulante e aumentar o número de volemias processadas ou em pacientes com insuficiência renal que poderia ter seu quadro agravado por infusão dessa solução. Na coleta com heparina, nosso serviço de aférese padronizou a proporção de 5.000 U de heparina/500 mL de ACD-A e razão ACD-A/sangue total de 1/30. Quando essa estratégia é realizada, a quantidade de ACD-A na bolsa do produto fica reduzida. A solução de ACD-A é importante também pelo fato de fornecer nutrientes às células, por essa razão, foram adicionados à bolsa com o produto celular (Figura 6) aproximadamente 30 mL dessa solução, por acesso apropriado, do próprio kit de coleta.

Figura 6. Bolsa com produto de CPH coletado por aférese.

Fonte: própria.

O número de volemias a serem processadas em uma coleta está diretamente relacionado ao número de células CD34⁺ circulantes no sangue periférico, portanto pode-se inferir que quanto menor a concentração dessas células, mais volemias

precisam ser processadas. Por esta razão, o número de volemias processadas não foi incluído nos dados a serem analisados neste estudo.

Após a coleta, duas amostras do produto (cerca de 500 μ L cada) foram coletadas e encaminhadas para a contagem das células pelo contador hematológico Sysmex Kx-21n (Sysmex Co, Hyogo, Japan) e para o laboratório de citometria de fluxo para a quantificação de células CD34⁺. O citômetro utilizado para este teste é BD FACSCalibur® da BD Biosciences (Franklin Lakes, New Jersey, Estados Unidos), que possui um laser de argônio cuja excitação é de 488 nm, três filtros ou detectores: FL1 515 - 545 nm, FL2 562 - 607 nm e FL3 $\geq$ 650nm, além do laser diodo de 633 nm e o detector de 661/16. O programa de aquisição utilizado foi o BD FACSCellquest Pro (BD Bioscience, NJ, Estados Unidos).

Como já mencionado anteriormente, o protocolo utilizado na quantificação de células CD34⁺ foi o ISHAGE em plataforma dupla. Esse protocolo permite a seleção da subpopulação de células CD34⁺ a partir da população total de leucócitos, marcadas com anticorpo monoclonal CD45 (células CD45 fraco), além de avaliar o tamanho e a complexidade celular. Os anticorpos utilizados para esse teste foram: CD45 FITC (clone 2D1, isotipo Mouse IgG1, κ), CD34 PE (clone 8G12, isotipo Mouse BALB/c IgG1) e o Isotipo controle PE IgG 1, κ). Três tubos 12 x 75 mm foram usados para o teste, sendo os dois primeiros CD45/CD34 conjugados com os fluorocromos FITC (emissão de 525 nm) e PE (emissão de 575 nm) respectivamente e o último será o tubo controle CD45/ γ 1. Em cada tubo, foi dispensado 30 μ L a 100 μ L da amostra homogeneizada e em seguida 5 μ L de cada anticorpo monoclonal de acordo com a identificação de cada tubo. As amostras foram delicadamente homogeneizadas e incubadas por 15 minutos em ausência de luz. Após a marcação das células pelos anticorpos, foi adicionado 1,0 mL de uma solução de lise (FACSlyse 1X BD Bioscience, NJ, Estados Unidos) que atua sobre a suspensão celular por 10 minutos. Em seguida foi adicionado em cada tubo 2,0 mL de tampão fosfato na concentração 1X, submetidos à centrifugação e lavagem para remoção dos anticorpos não ligados às células, debris celulares e hemoglobina livre. O botão celular foi ressuspensionado em tampão fosfato 1X em um volume de 100 a 1000 μ L. Após este passo, as amostras estavam prontas para serem analisadas e a cada tubo foram adquiridos 75.000 eventos para posterior cálculo das células CD34⁺.

O produto de CPH foi processado no laboratório de criobiologia, em sala específica com controle de partículas viáveis monitorado. Para o ajuste de volume, o produto foi submetido à centrifugação de alta rotação (360 RCF – Força Centrífuga Relativa) por 10 minutos a 4°C. Em seguida, o plasma excedente foi removido para que o volume do produto fosse de 100 mL. Durante a centrifugação do produto celular, foi preparado 100 mL de solução de criopreservação com o plasma autólogo coletado em uma outra bolsa do kit de aférese. Após a refrigeração deste plasma, 80 mL deste foi transferido para uma outra bolsa e adicionado 20 mL de DMSO (concentração DMSO na solução crioprotetora foi de 20%). Esta solução foi levada para refrigeração até o momento de seu uso. Esta estratégia de processamento visa que, sejam criopreservadas 2 bolsas de 100 mL cada na concentração final de DMSO de 10%. Quando, após a centrifugação e a remoção do plasma, o volume do produto celular era superior a 100 mL, o volume era ajustado sempre em múltiplos de 100 mL a fim de que mais bolsas fossem criopreservadas. A seguir, as bolsas eram inseridas em congelador mecânico a 80°C negativos. Finalmente, após um período mínimo de 24 horas, as bolsas criopreservadas foram transferidas para tanques de nitrogênio, nos quais foram mantidas até o momento de uso.

5.4 Infusão do produto de CPH

De acordo com o protocolo estabelecido pelo hospital, aproximadamente uma hora antes do início da infusão das CPH, os pacientes receberam medicamentos antialérgicos (hidrocortisona 200 mg e maleato de defenidramina 50mg) e antieméticos (bromoprida, cisaprida ou ondasetrona), a fim de minimizar a ocorrência de RA. No ato do transplante, as bolsas foram descongeladas em banho-maria a 37°C, usualmente à beira do leito, e infundidas sem prévia manipulação, através de um filtro de 170 µm, em acesso venoso central (Figura 7). O tempo de infusão foi de aproximadamente 15 minutos por bolsa, durante o qual os pacientes foram acompanhados por médicos e tiveram seus sinais vitais monitorados. As eventuais reações adversas foram registradas em ficha própria (Anexo III) e no prontuário médico.

Figura 7. Bolsa com produto CPH descongelada para a infusão.

Fonte: própria.

As reações adversas aqui consideradas foram aquelas detectadas durante o curso da infusão ou logo após o seu término, a saber: gastrointestinais (náusea/vômito, cólicas abdominais e diarreia), cardiorrespiratórias (dispneia, queda da saturação de O₂ e arritmia), neurológicas (cefaleia e encefalopatia), rubor facial e insuficiência renal aguda. Portanto, cada paciente, em tese, poderia ter apresentado até 5 reações adversas imediatas. Além do número de pacientes que apresentaram reações, também consideramos o número total de reações em cada grupo.

Os sinais vitais, incluindo os níveis pressóricos antes, durante e após a infusão foram monitorados em todos os pacientes, porém não foram analisados neste estudo.

Os pacientes transplantados permaneceram internados e foram submetidos a coletas diárias de sangue para os exames de rotina, entre os quais, o hemograma. O dia da recuperação hematológica foi definido como o primeiro dia em que o número de neutrófilos foi igual ou superior a 500/ μ L.

5.5 Análise estatística

Os dados categóricos e percentagens entre os dois grupos foram comparados com aplicação do teste qui-quadrado ou o teste exato de Fisher. Os dados com distribuição não paramétrica foram comparados por meio do emprego do teste Mann-Whitney. Os dados com distribuição paramétrica foram comparados por meio do emprego do teste t de Student. As tabelas de resultados exibem quais testes foram empregados. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* GraphPad Prism, versão 7.

6 RESULTADOS

6.1 Pacientes

Os dados basais dos pacientes foram obtidos no dia da coleta de CPH por aférese e estão descritos na Tabela 1. O grupo de pacientes mobilizados com QT+ G-CSF foi significativamente mais jovem que o grupo mobilizado com G-CSF, além de ser constituído por maior percentagem de pacientes com linfoma. Isso explica em grande parte a razão da diferença de idade, uma vez que a quimiomobilização é mais empregada em pacientes com linfoma do que em pacientes com mieloma múltiplo, os quais costumam ter idade mais avançada. O grupo de pacientes mobilizados com G-CSF isoladamente apresentou valores mais altos de leucócitos, plaquetas e concentração de hemoglobina, e baixo número de células CD34⁺.

Tabela 1 - Características basais dos pacientes no dia da coleta do produto celular de acordo com o esquema de mobilização. (Total 611 pacientes)

	G-CSF (n= 267)	G-CSF / QT (n= 344)	P
Sexo masculino (%)	166 (62,17 %)	211 (62,50 %)	0,93*
Idade (anos)	54 (46-60)	41 (29-55)	0,0001**
Diagnóstico			
Mieloma múltiplo	197 (73,8%)	81 (23,4%)	<0,0001*
Linfoma	70 (26,2%)	263 (76,5%)	
GB (x10³/μL)	30,8 (24,5 – 42,0)	17,3 (9,6 – 29,03)	<0,0001*
Granulócitos (x10³/μL)	28,7 (22,1 – 39,4)	15,4 (8,4 – 25,7)	<0,0001*
Linfócitos (x10³/μL)	2,25 (1,7 – 3,2)	1,2 (0,7 – 2,0)	<0,0001**
Plaquetas (x10³/μL)	155 (108 – 197)	53 (34 – 84,5)	<0,0001*
Hemoglobina (g/dL)	12,3 (11,0 – 13,5)	9,3 (8,4 – 10,7)	<0,0001*
Células CD34⁺ no SP (/μL)	16,6 (8,88 – 29,18)	31,1(16,15– 71,9)	<0,0001**

SP: sangue periférico; GB: glóbulos brancos. Resultados em mediana e percentis 25% -75% ou amplitude*.
Análise estatística: *Teste exato de Fisher; **Teste Mann-Whitney.

Fonte: própria

Gráfico 1 - Características dos padrões hematológicos dos pacientes de acordo com o esquema de mobilização.

G corresponde ao regime de mobilização que utilizou apenas G-CSF; QT corresponde ao regime de mobilização do G-CSF com quimioterapia; GB – glóbulos brancos; CD34 – Células CD34⁺ circulantes no sangue periférico no dia da coleta; GR – granulócitos; PLT – plaquetas; Hb – hemoglobina. Fonte: própria.

6.2 Produto

Os produtos de CPH obtidos em cada um dos dois grupos, de acordo com a mobilização com G-CSF e G-CSF / QT, mostraram diferenças significativas entre si em todos os parâmetros. Além disso, o grupo de pacientes infundidos com produto mobilizado com G-CSF recebeu uma dose maior de DMSO (tabela 2).

Tabela 2 - Características do produto celular coletado, de acordo com a mobilização.

	G-CSF (n= 267)	G-CSF / QT (n= 344)	P
Volume (mL)	316,9 (246 – 374,5)	229,2 (171,8 – 289,3)	< 0,0001
GB (x10³/μL)	242,0 (188,0 – 315,0)	165,2 (95,5 – 240,0)	< 0,0001
Granulócitos (x10³/ μL)	155,2 (113,2 – 205,1)	114,3 (69,43 – 178,2)	<0,0001
Linfócitos (x10³/ μL)	89,69 (58,28 – 114,5)	43,34 (26,69 – 71,91)	< 0,0001
Plaquetas (x10³/ μL)	1.590 (1.010 – 2.190)	392,0 (209,5 – 800,0)	< 0,0001
Vol. de hemácias (mL)	14,85 (10,75 – 20,5)	10,0 (6,85 – 13, 2)	< 0,0001
Células CD34⁺ (x10⁶)	169,1 (85,29 – 281,5)	278,0 (130,4 – 532,8)	< 0,0001
DMSO (g/Kg) *	0,21 (0,14 - 0,57)	0,17 (0,11 – 0,71)	0,012

*Resultados em mediana e percentis 25% - 75% ou amplitude. *Refere-se à dose infundida. Análise estatística: Teste Mann-Whitney. Vol. = volume.*

Fonte: própria

Gráfico 2 - Composição do produto celular de acordo com o esquema de mobilização.

Fonte: própria.

Gráfico 3. Volume do produto coletado x dose DMSO infundida.

Fonte: própria

6.3 Impacto clínico

6.3.1 Dose de células CD34 infundidas e recuperação da hematopoese

A dose de células CD34 infundidas foi maior no grupo quimiomobilizado, independentemente do diagnóstico. Além disso, observou-se uma recuperação mais rápida da hematopoese (aqui dada pelo tempo da enxertia de neutrófilos) em pacientes com mieloma múltiplo do grupo quimiomobilizado (Tabela 3).

Tabela 3 – Dose de células CD34 e dia da enxertia (neutrófilos $\geq 500/\mu\text{L}$).

	G-CSF	G-CSF / QT	P
DMSO			
infundido(g/Kg)	0,21 (0,14 - 0,57)	0,17 (0,11 – 0,71)	0,012
Dose CD34⁺ infundida			
(x10⁶ / Kg)			
Global	(123) 3,28 (2,46 – 3,99)	(159) 3,72 (2,58 – 5,48)	< 0,0001
Diagnóstico			
MM	(106) 3,45 (2,46 – 4,1)	(55) 3,88 (2,68 – 6,85)	0,0126
Linfoma	(17) 3,01 (2,07 – 3,57)	(104) 3,63 (2,57 – 5,13)	0,00341
Dia da recuperação da hematopoese			
Global	(116) 12 (11 – 14)	(153) 11 (10 – 12)	< 0,0001
Diagnóstico			
MM	(92) 11 (9 – 21)	(52) 10,5 (8 – 15)	0,0007
Linfoma	(15) 11 (9 – 15)	(98) 11 (8 – 26)	0,2194
<i>MM: mieloma múltiplo. Resultados: (n) mediana (amplitude). Análise estatística: Teste Mann-Whitney.</i>			

Fonte: própria

6.3.2 Reações adversas

As reações adversas consideradas foram: gastrointestinais (náusea/vômito, cólicas abdominais e diarreia), cardiorrespiratórias (dispneia e arritmia), neurológicas (cefaleia e encefalopatia), rubor facial e insuficiência renal aguda. Tais reações foram observadas durante o curso da infusão ou logo após o seu término. Dessa maneira, cada paciente, em tese, poderia ter apresentado até 5 reações adversas imediatas. Portanto, as análises levaram em consideração além do número de pacientes que apresentaram reações, o número total de reações em cada grupo.

Na tabela 4, estão descritas as frequências de reações adversas em relação aos dois grupos.

Tabela 4 - Reações adversas de acordo com o esquema de mobilização.

	G-CSF (n=127)	G-CSF / QT (n=159)	P	OD (IC 95%)
Nº				
pacientes	74 (58,27%)	81 (50,94%)	0,234	1,345 (0,85 – 2,14)
com RA				
Nº de RA	132 (20,70%)	126 (15,85%)	0,0185	1,393 (1,068 – 1,82)
Nº de RA de acordo com o diagnóstico				
MM	108 (19,12%)	39 (14, 18%)	0,08	1,43 (0,9688 - 2,138)
L	19 (20,0%)	87 (16,62%)	0,45	1,254 (0,7078 – 2,24)
Nº de indivíduos apresentaram RA de acordo com o sexo				
M (76)	38 (50,67%)	38 (39,18%)	0,1637	1,595 (0,8546 – 2,868)
F (79)	36 (69,23%)	43 (54,43%)	1	0,994 (0,4321 – 2,142)
Nº: número; RA: reações adversas; MM: mieloma múltiplo; L: linfomas; M: masculino. F: feminino Análise estatística: teste exato de Fisher.				

Fonte: própria.

6.3.2.1 Reações adversas de acordo com o esquema de mobilização.

A fim de verificar se outros fatores poderiam ter influenciado na ocorrência das reações adversas, optou-se por fazer análise que incluísse apenas os pacientes que receberam 2 ou mais bolsas de CPH, pois os dois novos grupos assim formados não apresentaram diferença quanto à dose de DMSO recebida (G-CSF: 0,31 g/kg e G-CSF / QT: 0,35 g/kg; $p= 0,1078$). Essa estratégia demonstrou que o grupo que recebeu produto mobilizado com G-CSF isoladamente apresentou maior número de reações adversas, o que sugere que outros fatores também possam ter contribuído para provocar reações adversas.

Tabela 5 - Reações adversas de acordo com o esquema de mobilização em pacientes que receberam 2 ou mais bolsas de CPH criopreservadas e a mesma dose de DMSO.

	G-CSF (n=109)	G-CSF / QT (n=92)	P	OD IC 95%
Dose de DMSO (g / Kg) *	0,31 (0,27 – 0,4)	0,35 (0,29– 0,41)	0,1078	-
Nº				
pacientes com RA	65 (59,63%)	43 (46,74%)	0,0882	1,683 (0,95 - 2,89)
Nº de RA	122 (22,39%)	75 (16,30%)	0,0167	1,481 (1,071 – 2,06)
Nº de RA de acordo com o diagnóstico				
MM	104 (22,86%)	18 (20,00%)	0,678	1,85 (0,683 - 2,09)
L	18 (11,11%)	45 (16,67%)	0,1231	0,625 (0,3406 – 1,12)
Nº de indivíduos apresentaram RA de acordo com o sexo				
M	33 (52,38%)	17 (32,69%)	0,0392	2,265 (1,09 - 4,761)
F	32 (69,57%)	26 (65,00%)	0,8178	1,231 (0,5211 – 2,917)

Nº: número; RA: reações adversas; MM: mieloma múltiplo; L: linfomas; M: masculino. F; Feminino Análise estatística: teste exato de Fisher. * Teste Mann-Whitney.

Fonte: própria

A náusea / vômito é a reação mais frequente que ocorre durante a infusão de CPH criopreservadas.

Tabela 6 - Frequência de náusea e vômito de acordo com o sexo.

	Masculino (n= 172)	Feminino (n= 114)	P	OD IC 95%
DMSO**(g/Kg)	0,31 (0,12 – 0,66)	0,34 (0,12 – 0,97)	0,79*	-
Náusea/vômito (%)	41	53	0,0001**	2,78 (1,69 – 4,68)

Resultados em mediana amplitude e nº de reações. **Refere-se a dose infundida. Análise estatística:

*Teste Mann-Whitney; ** Teste exato de Fisher

Fonte: própria

Ao realizar uma análise global para avaliar a frequência de náusea / vômito não foi possível observar diferença com significância estatística, sendo 48 (37, 80%, $n = 127$) reações no grupo G-CSF e 46 (28,93%, $n = 159$) reações para o grupo de G-CSF / QT, $p=1,289$, $OD = 1,493$ (0,9182 – 2,424).

7 DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo verificar se existem diferenças quanto ao conteúdo dos produtos obtidos de acordo com o tipo de esquema de mobilização de CPH, para utilização no transplante autólogo de pacientes com mieloma múltiplo ou linfoma. Além da caracterização do produto celular obtido, também foi avaliado o impacto clínico decorrente de sua infusão, como a recuperação hematológica e a frequência de reações adversas.

A análise do perfil hematológico dos pacientes mostrou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos estudados, G-CSF e G-CSF / QT. Os pacientes do grupo G-CSF apresentaram número mais elevado de glóbulos brancos, de granulócitos, de linfócitos, de plaquetas e de hemoglobina que os do grupo G-CSF / QT. Já o número de células CD34⁺ era maior no grupo G-CSF / QT. A idade era maior no grupo G-CSF, uma relação importante que pode ser explicada pela literatura, já que neste grupo era composto por 73,8% de indivíduos com mieloma múltiplo, doença que afeta indivíduos com idade mais avançada (SANDY JR et al., 2014). A literatura também evidencia maior tendência na utilização de quimiomobilização em pacientes mais jovens (SKERGET et al., 2016).

O perfil hematológico dos pacientes, dados demonstrados na Tabela 1 influenciou diretamente na composição celular do produto de aférese (Tabela 2), o que confirma a primeira hipótese levantada neste trabalho.

O volume do produto coletado do grupo G-CSF era maior que no grupo G-CSF / QT, assim como a concentração de células nucleadas totais e volume de hemácias. O fato de o volume do produto coletado ser menor no grupo G-CSF / QT pode ser atribuído ao maior número de células CD34⁺ circulantes no dia da coleta e por isso, supõe-se que menor número de volemias sanguíneas fossem processadas para que atingisse o número mínimo de células para o transplante. Estes fatores podem ter contribuído para infusão de maior concentração de DMSO nos pacientes do grupo G-CSF.

O grupo que recebeu maior dose células CD34⁺ (x10⁶/Kg) foi o grupo que fez a mobilização com G-CSF / QT (tabela 3). Este dado parece apontar para recuperação hematológica tardia para os pacientes no grupo G-CSF. A recuperação

da hematopoese (neutrófilos $\geq 500 / \mu\text{L}$) ocorreu nos dias 12 (11-14) e 11 (10-12) nos grupos G-CSF e G-CSF / QT, respectivamente ($p < 0,0001$). Apesar da diferença estatisticamente significativa em relação à recuperação da hematopoese parece não trazer impactos clínicos relevantes para o grupo G-CSF (CORDOBA et al., 2007). Observamos uma diferença substancial (tabelas 2, 3 4 e 5) quanto aos dois aspectos da investigação, a característica do produto e seu impacto clínico, o que ainda não estava claro na literatura.

As reações adversas ocorreram mais frequentemente e em maior número nos pacientes do grupo G-CSF. Esse grupo ainda recebeu maior concentração de células nucleadas totais, maior volume de hemácias e maior dose de DMSO. Na tentativa de observarmos melhor qual poderia ter sido o papel da composição do produto celular sobre às reações adversas ocorridas, foi analisada a dose de DMSO infundida nos pacientes que receberam 2 ou mais bolsas. Após verificarmos que não houve diferença estatisticamente significativa na dose infundida de DMSO entre os dois grupos (tabela 5), analisamos a ocorrência das reações adversas. As reações ocorreram, na maioria das vezes, no grupo que recebeu produto celular coletado com G-CSF.

Náuseas e vômitos são as reações adversas mais frequentes durante e logo após a infusão de CPH criopreservadas com o agente crioprotetor DMSO, como demonstra a literatura (ALESSANDRINO et al., 1999; KHERA et al., 2007). No presente estudo foi observado que pacientes do sexo feminino apresentaram risco de náusea e vômitos quase três vezes maior que indivíduos do sexo masculino a partir da infusão de CPH criopreservadas com DMSO, mesmo tendo recebido a mesma dose de DMSO. Esse dado condiz com achados semelhantes descritos em mulheres submetidas à quimioterapia antineoplásica (FUJII; IIHARA; KAJIKAWA, 2017), uma vez que há maior suscetibilidade de indivíduos do sexo feminino a apresentar essa complicação, independentemente do estímulo emetogênico.

Porém, independentemente da dose de DMSO e do tipo de mobilização, durante a infusão de CPH, a ocorrência de náusea/vômito permaneceu mais frequente no sexo feminino, provavelmente, em decorrência do fator biológico. O que nos faz supor que a diferença na composição do produto celular, talvez, possa acarretar no maior desenvolvimento de reações adversas à infusão independentemente do diagnóstico, sexo ou idade do paciente. Portanto,

acreditamos ter contribuído para um melhor esclarecimento de aspectos específicos do transplante autólogo nesses pacientes.

Apesar dos achados desse estudo terem demonstrado a influência na composição do produto celular e que estas características podem contribuir para maior número de ocorrência de reações adversas imediatas à infusão, a tendência mundial é promover a mobilização de CPH com o uso isolado de G-CSF, principalmente porque a mobilização G-CSF / QT está sabidamente associada a riscos para o paciente, como a neutropenia febril, a necessidade transfusional aumentada, o risco de cistite hemorrágica, entre outros, e a necessidade de internação hospitalar, o que também acarreta aumento substancial dos custos do procedimento como um todo (este último aspecto não foi objeto de análise).

8 CONCLUSÕES

Ao final deste estudo conseguimos confirmar as hipóteses levantadas inicialmente: que o produto coletado apenas com G-CSF é menos puro no que diz respeito às células CD34+; os pacientes do grupo G-CSF apresentaram mais reações adversas na infusão do produto celular e que este mesmo grupo teve uma desvantagem em razão do discreto atraso da recuperação da hematopoese.

Com esses resultados acreditamos que a mobilização para obtenção de CPH para transplante autólogo utilizando a associação de agentes quimioterápicos pode contribuir de outras formas para o desfecho clínico, mesmo levando em conta suas desvantagens durante a mobilização.

9 REFERÊNCIAS

ALESSANDRINO, P. et al. Adverse events occurring during bone marrow or peripheral blood progenitor cell infusion: analysis of 126 cases. **Bone marrow transplantation**, v. 23, n. 6, p. 533–7, 5 mar. 1999.

BOING, H.; PAPAYANNOPOULOU, T. Stem Cell Mobilization. **Methods in Molecular Biology**, v. 904, p. 1–14, 2012.

BOJANIC, I. et al. Toxicity related to autologous peripheral blood haematopoietic progenitor cell infusion is associated with number of granulocytes in graft, gender and diagnosis of multiple myeloma. **Vox Sanguinis**, v. 95, n. 1, p. 70–75, 2008.

CASHEN, A. F.; LAZARUS, H. M.; DEVINE, S. M. Mobilizing stem cells from normal donors: is it possible to improve upon G-CSF? **Bone marrow transplantation**, v. 39, n. January, p. 577–588, 2007.

CORDOBA, R. et al. The occurrence of adverse events during the infusion of autologous peripheral blood stem cells is related to the number of granulocytes in the leukapheresis product. **Bone Marrow Transplantation**, v. 40, n. 11, p. 1063–1067, 1 dez. 2007.

DE SANTIS, G. C.; PRATA, K. D. L. Criopreservação de células-progenitoras hematopoéticas. **Revista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e do Hospital das Clínicas da FMRP**, v. 42, n. 1, p. 36–47, 2009.

DUONG, H. K. et al. Peripheral Blood Progenitor Cell Mobilization for Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. 2014.

FUJII, H.; IIHARA, H.; KAJIKAWA, N. Control of Nausea Based on Risk Analysis in Patients with Esophageal and Gastric Cancer Who Received Cisplatin-based Chemotherapy. **Anticancer Research**, v. 37, n. 12, p. 6831–6837, 2017.

GAZITT, Y. Comparison between granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the mobilization of peripheral blood stem cells. **Current opinion in hematology**, v. 9, p. 190–198, 2002.

HERBERT, K. E. et al. How we mobilize haemopoietic stem cells. **Internal Medicine Journal**, v. 41, p. 588–594, 2011.

JACOB, S. W.; HERSCHLER, R. Pharmacology of DMSO. **Cryobiology**, v. 27, p. 14–27, 1986.

JANTUNEN, E.; FRUEHAUF, S. **Importance of blood graft characteristics in auto-SCT: Implications for optimizing mobilization regimens** **Bone Marrow Transplantation**, 2011.

KHERA, N. et al. Limiting the Daily Total Nucleated Cell Dose of Cryopreserved Peripheral Blood Stem Cell Products for Autologous Transplantation Improves Infusion-Related Safety with No Adverse Impact on Hematopoietic Engraftment. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 18, n. 2, p. 220–228, 2007.

KOLB, H.-J. *As Time Goes by* 2015.

MENDRONE, A. et al. Factors affecting hematopoietic progenitor cell mobilization : An analysis of 307 patients. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 39, n. 3, p. 187–192, 2008.

MENDRONE JUNIOR, A. Sangue periférico como fonte de células para terapia celular. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 1, p. 19–24, 2009.

MOHTY, M. et al. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: a position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. v. 49, 2014.

MOTABI, I. H.; DIPERSIO, J. F. Advances in stem cell mobilization. **Blood Reviews**, v. 26, n. 6, p. 267–278, 2012.

PASQUINI, M. C. et al. 2010 report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR): current uses and outcomes of hematopoietic cell transplants for blood and bone marrow disorders. **Clinical transplants**, p. 87–105, 2010.

PASTORE, D. et al. Progenitor cell mobilization Good and poor CD34⁺ cells mobilization in acute leukemia : analysis of factors affecting the yield of progenitor

cells. **Bone marrow transplantation**, v. 33, n. April, p. 1083–1087, 2004.

PAULA, A. et al. Quantification of CD34+ hematopoietic stem cells from the umbilical cord of dogs. **Ciência Rural**, v. 3939, n. 22, p. 434–441, 2009.

PUSIC, I. et al. Impact of Mobilization and Remobilization Strategies on Achieving Sufficient Stem Cell Yields for Autologous Transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 14, p. 1045–1056, 2008.

SANDY JR, P. A. et al. Multiple myeloma at 30: the reverse of the epidemiology. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 13, n. 3, p. 210–212, 2014.

SARACENI, F. et al. Mobilized peripheral blood grafts include more than hematopoietic stem cells: The immunological perspective. **Bone Marrow Transplantation**, v. 50, n. 7, p. 886–891, 2015.

SELLE, F. et al. Intensive chemotherapy as salvage treatment for solid tumors: focus on germ cell cancer. **Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica ... [et al.]**, v. 48, p. 13–24, 2014.

SHEPPARD, D. et al. Systematic Review of Randomized Controlled Trials of Hematopoietic Stem Cell Mobilization Strategies for Autologous Transplantation for Hematologic Malignancies. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 18, n. 8, p. 1191–1203, 2012.

SILVENNOINEN, R. et al. A randomized phase II study of stem cell mobilization with cyclophosphamide+G-CSF or G-CSF alone after lenalidomide-based induction in multiple myeloma. **Bone Marrow Transplantation**, v. 51, n. 3, p. 372–376, 2016.

SKERGET, M. et al. Mobilization with cyclophosphamide reduces the number of lymphocyte subpopulations in the leukapheresis product and delays their reconstitution after autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. **Radiology and Oncology**, v. 50, n. 4, p. 402–408, 1 dez. 2016.

SMAGUR, A. et al. Impact of different dimethyl sulphoxide concentrations on

cell recovery, viability and clonogenic potential of cryopreserved peripheral blood hematopoietic stem and progenitor cells. **Vox Sanguinis**, v. 104, p. 240–247, 2013.

SUTHERLAND, D. R. et al. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. **Journal of hematotherapy**, v. 5, n. 3, p. 213–26, jun. 1996.

VIGORITO, A. C.; DE SOUZA, C. A. Hematopoietic stem cell transplant and recovery of hematopoiesis. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 4, p. 280–284, 2009.

VOSE, J. M. et al. Advances in mobilization for the optimization of autologous stem cell transplantation. **Leukemia & lymphoma**, v. 50, n. September, p. 1412–1421, 2009.

WHITBY, A. et al. ISHAGE protocol: Are we doing it correctly? **Cytometry Part B: Clinical Cytometry**, v. 82B, n. 1, p. 9–17, jan. 2012.

10 ANEXOS

10.1 Anexo I

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência do esquema de mobilização de células progenitoras hematopoéticas no produto da aférese e nas reações adversas no receptor.

Pesquisador: Aline Cristina Garcia Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 89608718.0.0000.5440

Instituição Proponente: Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto

Patrocinador Principal: Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.689.673

Apresentação do Projeto:

O transplante autólogo de células progenitoras hematopoéticas (CPH) é uma terapia aplicada para o tratamento de várias doenças hematológicas como o mieloma múltiplo e os linfomas. A coleta das células progenitoras hematopoéticas depende da sua mobilização, que consiste na migração "forçada" destas células da medula óssea para o sangue periférico. O fenômeno da mobilização celular ocorre após a administração de fatores de crescimento, especialmente do G-CSF, associado ou não a quimioterapia. Há uma tendência em optar pela mobilização apenas com G-CSF devido a algumas desvantagens inerentes à quimiomobilização, como, por exemplo, a neutropenia febril, a plaquetopenia e demanda aumentada por transfusões de hemocomponentes. Além disso, a quimiomobilização torna menos previsível o dia do pico de CPH (CD34+) no sangue periférico. Após a coleta por máquinas de aférese, as CPHs são obrigatoriamente criopreservadas a fim de manter a viabilidade celular, que pode ser comprometida devido a logística do transplante autólogo como o intervalo entre a coleta e o período de condicionamento do paciente. Neste momento, se faz necessário o uso de um agente crioprotetor como o dimetilsulfóxido (DMSO). Sabe-se que reações adversas podem acontecer durante a infusão do produto celular que, na maioria das vezes, tem causa atribuída a esse composto. Este estudo propõe investigar a existência de possíveis diferenças na característica do produto celular coletado com G-CSF e coletado com G-CSF associado à quimioterapia e se as características de cada produto têm impacto clínico, quanto a reações adversas e também na recuperação da hematopoese.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

Continuação do anexo I

Continuação do Parecer: 2.689.673

Objetivo da Pesquisa:

Investigar a possível diferença na característica do produto celular obtido pelos dois esquemas de mobilização e o impacto nas reações adversas durante a infusão das CPH.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Considerando o aumento do número de coletas utilizando apenas o G-CSF na mobilização das CTPHs como mudança de estratégia em decorrência das complicações na associação de agentes quimioterápicos e o fato de não se conhecer as diferenças e características entre os produtos coletados nos dois esquemas de mobilização, o presente estudo visa contribuir analisando dados de um extenso período de trabalho deste centro coletador/transplantador e ainda analisar possíveis impactos clínicos no transplante de CTPHs. Não há biológicos para o paciente, uma vez que se trata de estudo retrospectivo que envolve apenas análise de dados recolhidos de prontuário médico. Os riscos de quebra de sigilo da identidade serão minimizados pelos autores, que tomarão medidas específicas quanto a esse aspecto.

Benefícios: Não há nenhum benefício direto para o paciente, no entanto, o conhecimento das características do conteúdo celular dos produtos poderá indicar medidas futuras para reduzir os riscos de reação adversa à sua infusão.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo retrospectivo, desenvolvido no Hemocentro de Ribeirão Preto e no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos devidamente apresentados. Solicita a dispensa de aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Trata-se de um estudo observacional, retrospectivo, em que os dados clínico-laboratoriais seriam obtidos exclusivamente dos registros de prontuários médicos. Nenhum exame será solicitado aos pacientes para preencher eventuais lacunas do estudo em questão.

Recomendações:

não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa, assim como a solicitação de dispensa de aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, podem ser

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do anexo I

Continuação do Parecer: 2.689.673

enquadrados na categoria APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1090534.pdf	15/05/2018 13:00:11		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_PESQUISA_COMPLETO.pdf	15/05/2018 12:59:46	Aline Cristina Garcia Silva	Aceito
Outros	Solicitacao_Apreciacao_do_projeto.pdf	14/05/2018 17:50:04	Aline Cristina Garcia Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DISPENSA_TCLE.pdf	14/05/2018 17:46:02	Aline Cristina Garcia Silva	Aceito
Orçamento	Aprov_UPC.pdf	14/05/2018 17:45:12	Aline Cristina Garcia Silva	Aceito
Declaração do Patrocinador	AUTORIZ_PROJ.pdf	14/05/2018 17:44:00	Aline Cristina Garcia Silva	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Decl_participantes.pdf	14/05/2018 17:42:08	Aline Cristina Garcia Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DEC_INFRAESTRUTURA.pdf	14/05/2018 17:40:41	Aline Cristina Garcia Silva	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	14/05/2018 17:37:55	Aline Cristina Garcia Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

Continuação do anexo I

Continuação do Parecer: 2.689.673

RIBEIRAO PRETO, 04 de Junho de 2018

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
 (Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

10.2 Anexo II

HEMOCENTRO RP	Formulário I REV.: 05 P. 1/5
	TERAPIA CELULAR	
	PROCESSAMENTO DE CÉLULAS PRECURSORAS HEMATOPOÉTICAS MO OU SP	

NOME DO DOADOR: _____

Registro hospitalar: _____ **Pessoa física:** _____

Data de nascimento: ____ / ____ / ____ **Sexo:** _____ **Tipo sanguíneo:** _____

Sorologia: () Não reagente () Reagente: _____

Peso: _____ Kg **Coleta autóloga:** () SIM () NÃO (se não, preencher os dados do receptor).

NOME DO RECEPTOR: _____

Registro hospitalar: _____ **Pessoa física:** _____

Data de nascimento: ____ / ____ / ____ **Sexo:** _____ **Peso:** _____ Kg

Tipo sanguíneo: _____ **Diagnóstico:** _____

CONVÊNIO: () SUS () OUTRO: _____

DADOS DO PRODUTO:

- ◆ Código da bolsa (ISBT128): _____
- ◆ Fonte das células precursoras: () Sangue periférico () Medula óssea
- ◆ Data da Coleta: ____ / ____ / ____ **Início:** _____ **Término:** _____
- ◆ Contagem das células CD34⁺ / µL do sangue periférico: _____
- ◆ Anticoagulante utilizado: () ACD () ACD+heparina () Outros: _____
- ◆ Volume de anticoagulante na bolsa: _____

Visto/Carimbo (Resp. Aférese)

Continuação anexo II

HEMOCENTRO RP	Formulário I REV.: 05 P. 2/5
	TERAPIA CELULAR	
	PROCESSAMENTO DE CÉLULAS PRECURSORAS HEMATOPOÉTICAS MO OU SP	

Recebimento: Data ____/____/____ horário: ____h ____min

Inspeção Visual:

a) Identificação correta? () Sim () Não _____

b) Temperatura da bolsa: ____°C (VR : 2 a 24 °C) Adequado? () SIM () Não _____

c) Sistema aberto? () Não () Sim _____

d) Aparência usual? () Sim () Não _____

e) Presença de coágulos () Não () Sim _____

f) Sinal sugestivo (cor, coágulos, hemólise) de contaminação bacteriana? () Não () Sim _____

Responsável: _____ Horário: ____h ____min

EXAMES:

Contagens:

Peso da Bolsa Matriz (g)	Volume Bolsa Matriz (mL)	Células Nucleadas		Células CD34+	
		Total (x10 ⁸)	(x10 ⁸) / Kg	Total (x10 ⁶)	(x10 ⁶) / Kg
Viabilidade celular (%)					
Responsável:					
Conferido por:					

OBS. _____

+_-

CONGELAMENTO:

Data: ____/____/____ Processamento da unidade de CPH após/horas: _____

Solução Criopreservante:

() Plasma autólogo + DMSO 20% () Albumina humana 5% + DMSO 20%

Obs.: A concentração final do DMSO no produto será de 10% .

Método de Congelamento:

() Freezer mecânico -80°C - Código qualidade: _____ () Em temperatura programada

Continuação anexo II

HEMOCENTRO RP		Formulário I REV.: 05 P. 3/5
	TERAPIA CELULAR		
	PROCESSAMENTO DE CÉLULAS PRECURSORAS HEMATOPOÉTICAS MO OU SP		

	Horário	Visto
Início do processamento (≤ 44h da coleta)		
Término do processamento		
Adição solução crioprotetora (≤ 90' término processamento)		
Início da criopreservação (≤ 30' término passo anterior)		

Congelamento - bolsa nº _____					
Data		Bolsas Aliquotadas	Volume (mL)	Volume de Solução Criopreservante (mL)	Freezer
	1				
	2				
	3				
	4				

Cultura Microbiológica:

Data da amostra	Código da Cultura	Resultado	Data resultado	Visto

Visto/Carimbo

Inspeção Visual após o processamento: Adequada () Sim () Não

Dados SBS:

Nº do procedimento de criopreservação: _____ Responsável: _____

Liberação e entrada em estoque realizada em: _____ Responsável: _____

Continuação anexo II

HEMOCENTRO RP	Formulário I REV.: 05 P. 4/5
	TERAPIA CELULAR	
	PROCESSAMENTO DE CÉLULAS PRECURSORAS HEMATOPOÉTICAS MO OU SP	

Nome ou código do doador:

Registro:

Nome ou código do receptor:

Registro:

Se houver, colar etiqueta de identificação com nome completo e número do prontuário

Colar aqui a etiqueta de base do
ISBT

Rotulagem: Data: ____/____/____

Adequada? () Sim () Não _____

(Visto/ Carimbo)

(Visto/ Carimbo)

Armazenamento em Tanque de Nitrogênio Líquido (NL2): Data ____/____/____

Código do Equipamento: _____

Número de bolsas: _____

Rack: _____

Posição: _____

Responsável: _____

Continuação anexo II

HEMOCENTRO RP	Formulário I REV.: 05 P. 5/5
	TERAPIA CELULAR	
	PROCESSAMENTO DE CÉLULAS PRECURSORAS HEMATOPOÉTICAS MO OU SP	

Descarte ou ruptura de Bolsa (s): _____ **Data:** ____/____/____

Bolsa (s) nº: _____

Motivo: _____

Destino: _____

Visto/Carimbo

Uso da área médica (se necessário) **Data:** ____/____/____

Visto/Carimbo

HEMOCENTRO RP	Formulário I REV.: 05 P. 5/5
	TERAPIA CELULAR	
	PROCESSAMENTO DE CÉLULAS PRECURSORAS HEMATOPOÉTICAS MO OU SP	

Descarte ou ruptura de Bolsa (s): _____ **Data:** ____/____/____

Bolsa (s) nº: _____

Motivo: _____

Destino: _____

Visto/Carimbo

Uso da área médica (se necessário) **Data:** ____/____/____

Visto/Carimbo

10.3 Anexo III

HEMOCENTRO RP	Formulário IV REV.: 03 P.: 01/02
	TERAPIA CELULAR	
	INFUSÃO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS	

Nº da Bolsa Matriz: _____

Nome do Receptor: _____

Registro: _____ PF: _____ Leito: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Sexo: _____ Peso: _____

Patologia: _____

Condicionamento: _____

♦ Fonte das células precursoras: _____

♦ Data da Infusão: ____/____/____ Início: _____ Término: _____

BOLSAS INFUNDIDAS: _____ () Lavadas () Não Lavadas

N.º das Bolsas Aliquotadas	Data congelamento	Volume (mL)	Volume ACD	Células nucleadas (x 10 ⁶)	Células CD34+ (x10 ⁶)
TOTAL					
TOTAL/Kg					

DMSO infundido(g): _____ DMSO(g)/Kg de peso: _____

VIABILIDADE CELULAR:

Nº da Bolsa	Data Congelamento	Viabilidade Celular

REAÇÕES ADVERSAS À INFUSÃO:

	SIM	NÃO
Náusea / vômito		
Rubor		
Cólicas abdominais		
Dispneia		
Diarréia		
Cefaléia		

Continuação anexo III

INFUSÃO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS					P.: 02/02		
Outras: _____							
SINAIS VITAIS:							
	PRÉ				POS		
Pressão arterial							
Freq. cardíaca							
Freq. respiratória							
Saturação O ₂							
Temperatura							
CONTROLES LABORATORIAIS: (Opcional)							
	Na	K	UR /Cr	BT/BD	TGP	TGO	Data
PRÉ							
POS							
Inspeção da bolsa: _____							
Conferência da identificação da bolsa: _____							
_____ Visto/Carimbo (médico)				_____ Visto/Carimbo (resp. conf. identif.)			
RECONSTITUIÇÃO DA FUNÇÃO HEMATOPOÉTICA DA MEDULA ÓSSEA:							
	Data	Dia após infusão					
Neutrófilos $\geq 500 / \text{mm}^3$							
OBS.: _____							
CULTURA MICROBIOLÓGICA:							
Amostra	Nº da Cultura	Microbiológico					
OBS.: _____							

10.4 Anexo IV

TRANSFUSION
2018 Vol. 58 Supplement S2

ABSTRACT

71A

CT119

Mobilization of Hematopoietic Progenitor Cell with G-CSF Alone or Associated with Chemotherapy Influences Product Cell Content and Transplant Clinical Outcome

Aline C. Garcia-Silva¹, Giuliana M. Dotoli¹, Benedito de Pina Almada Prado Jr.¹, Luciana C. Oliveira¹, Dimas T. Covas¹ and Gil C. De Santis^{1,2}. ¹Center for Cell-Based Therapy of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil, ²Regional Blood Center of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil

Background/Case Studies: Autologous hematopoietic progenitor cell (HPC) transplantation requires mobilization of HPC to peripheral blood. Mobilization is performed with the administration of G-CSF alone (G) or associated with chemotherapy (G/CT). HPC products obtained by these two methods present difference in cell content, which could result in different clinical outcomes, such as hematologic recovery and adverse reactions (AR) to product infusion. This retrospective study aimed to evaluate rates of AR to product infusion according to type of cell mobilization, G-CSF alone or associated with chemotherapy.

Study Design/Method: A total of 611 patients with lymphoma or multiple myeloma (MM) underwent mobilization and harvesting of HPC for autologous transplantation over the last 15 years, 267 with G and 344 with G/CT (285 of whom underwent transplantation at our institution). The apheresis procedure results in 2 bags (100 mL each), which are cryopreserved with DMSO at 10% and kept in liquid nitrogen container until thawed and infused. The evaluated AR were nausea/vomiting, diarrhea, arrhythmia, dyspnea and neurologic abnormalities (cephalea and encephalopathy) (5 possibilities of AR for each patient) during cell infusion or just after its completion.

Results/Finding: Median (range) age were 54 (46-60) and 41 (29-55) years for groups G and G/CT, respectively ($p < 0.0001$). Peak of CD34+ cells/ μ L were 16.6 (8.88 – 29.18) and 31.1 (16.15– 71.9) for G and G/CT groups, respectively ($p < 0.0001$). G products contained a higher number of granulocytes ($\times 10^3/\mu$ L): 155.2 (113.2–205.1) vs 114.3 (68.31–178.1) ($p < 0.0001$) and platelets ($\times 10^3/\mu$ L): 1590 (1010-2190) vs 392 (209.5-790) ($p < 0.001$). G group received a higher dose of DMSO (g/kg): 0.21 (0.14-0.57) vs 0.17 (0.11-0.71) ($p = 0.012$), and an inferior dose of CD34 cells ($\times 10^6/\text{kg}$): 3.28 (2.46-3.99) vs 3.72 (2.58-5.48) ($p < 0.0001$). Hematologic recovery (neutrophil $\geq 500/\mu$ L) occurred on day 12 (11-14) and 11 (10-12) for G and G/CT groups, respectively ($p < 0.0001$). AR occurred in 58.27% and 50.94% of patients in groups G and G/CT, respectively ($p = 0.234$), however, the number of reactions were 132 (in 636 possibilities) and

126 (in 795 possibilities) in G and G/CT groups, respectively ($p = 0.016$). In patients who received ≥ 2 bags of HPC (similar dose of DMSO) we observed a higher number of AR in G group (122 vs 75, $p = 0.02$). Female gender was associated with a higher rate of nausea/vomiting (23.84% vs 46.49%, $p = 0.0001$).

Conclusion: Mobilization of HPC with G-CSF alone has many advantages, although it results in higher number of unwanted cells such as granulocytes and platelets (and less CD34 cells) in final product, which can explain, at least in part, the higher rate of adverse reactions during cell infusion that was observed. Finally, mobilization with G-CSF alone results in fewer CD34 cells transplanted and a protracted hematologic recovery.

CT120

Background/Case Studies:**Study Design/Method:****Results/Finding:**

(CT120)

* collected over 2 days