

Wellington Morais de Azevedo

***TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE CÉLULAS-TRONCO
PERIFÉRICAS MOBILIZADAS POR rhG-CSF, NÃO
MANIPULADAS "IN VITRO", PARA TRATAMENTO DE
NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS***

Campinas, 1995

Wellington Moraes de Azevedo

***TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE CÉLULAS-TRONCO
PERIFÉRICAS MOBILIZADAS POR rhG-CSF, NÃO
MANIPULADAS "IN VITRO", PARA TRATAMENTO DE
NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS***

*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.*

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

Campinas, 1995

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

| | |
|---------------------------|-------------------------------------|
| UNIDADE | BC |
| N.º CHAMADA: | T/UNICAMP |
| | A25t |
| V. Ex. | |
| T. ASS. BC/26.138 | |
| PROT. | 433/95 |
| C | <input type="checkbox"/> |
| D | <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO | R\$ 11,00 |
| DATA | 01/12/95 |
| N.º SP/2.º AN. 00081029-9 | |

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS - UNICAMP

A25t

Azevedo, Wellington Moraes de

Transplante alogênico de células-tronco periféricas mobilizadas por rhG-CSF, não manipuladas *in vitro*, para tratamento de neoplasias hematológicas / Wellington Moraes de Azevedo. Campinas, SP: [s.n.], 1995.

Orientador : Cármino Antonio de Souza

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

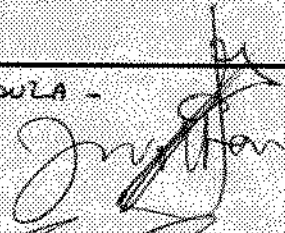
I. Transplante homólogo. 2. Transplante celular. 3. Células primitivas. I. Souza, Cármino Antonio de. II Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.


Banca Examinadora de Tese de Doutoramento


Orientador:

Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza


Membros:

1. Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza - 

2. Prof. Dr. Julio Voltarelli - 

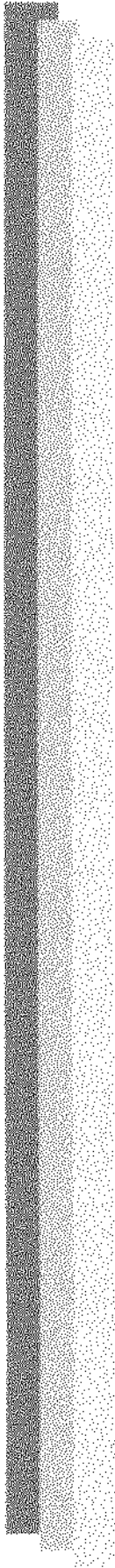
3. Prof. Dr. Fabiano Dully - 

4. Prof. Dra. Irene G. H. Grand Metzger - 

5. Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa - 

Curso de pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 06 de outubro de 1995.



*"É belo porque com o novo
todo o velho contagia.
Belo porque corrompe
com sangue novo a anemia.
Infecciona a miséria
com vida nova e sadia.
Com oásis, o deserto,
com ventos, a calmaria."*

João Cabral de Melo Neto

"Morte e Vida Severina"

Dedicatória

Ao meu pai, Starling (in memoriam), pelo modelo que foi;

À minha mãe, Hortência, por ter propiciado as condições que permitiram que eu me tornasse o que sou;

À minha esposa, Irene, pelo amor e companheirismo que me dedica;

As minhas filhas, Maria Tereza e Flávia, por me propiciar a difícil mas fascinante experiência de servir como modelo.

Agradecimentos

Este trabalho, é o produto do empenho e da dedicação de uma grande equipe multidisciplinar, à qual, eu tenho o privilégio de pertencer.

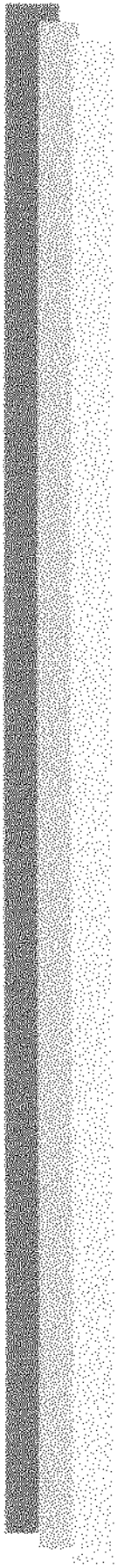
Nominar indivíduos nesta hora é muito difícil mas não seria justo deixar de tornar públicas a minha gratidão e o reconhecimento àquelas pessoas que tornaram este trabalho possível.

Esta lista, certamente ficará incompleta mas eu a utilizo como veículo para apresentar a minha sincera gratidão às pessoas nominadas abaixo e àqueles anônimos contribuintes para o sucesso do nosso programa:

- * *Ao **Cármino**, pela confiança desde o primeiro momento, pelos ensinamentos e pela amizade construída neste período de convívio.*
- * *Ao **Dean Buckner**, pelo incentivo à realização deste trabalho e pela consideração que sempre me dispensou.*
- * *À **Francis** pela competência, dedicação, amizade e lealdade que sempre dedicou a todos no serviço. O seu "bom astral" tem tornado o nosso trabalho mais leve e prazeroso.*
- * *Aos **docentes da Disciplina de Hematologia da Faculdade de Ciências Médicas, Fernando, Sarita, Irene e Joyce** pelo apoio e colaboração dados à minha pessoa e ao nosso programa.*
- * *Aos **médicos da equipe de TMO, Afonso, Alexandre, Aranha, Jacqueline e Kátia** que com competência, dedicação e lealdade me ajudaram a construir um serviço sério, mas bem humorado.*

- * *À Elvira, que muito nos tem ensinado e ajudado no cuidado da saúde oral de nossos pacientes.*
- * *Aos médicos da Divisão de Hemoterapia do Hemocentro/UNICAMP pela dedicação e profissionalismo que sempre dedicaram aos nossos pacientes.*
- * *Ao Marques e ao Eduardo, do Serviço de Aférese do Hemocentro, que foram os responsáveis diretos pela obtenção das células utilizadas neste projeto e sempre demonstraram grande competência no seu trabalho.*
- * *Aos médicos residentes da Disciplina de Hematologia do Departamento de Clínica Médica, Jordana, Kátia, Jorge, Roberta pela ajuda dedicada e pelo entusiasmo demonstrado no trabalho, em nosso serviço.*
- * *Às biólogas do Serviço de Imunogenética, Ligia, Silvia e Sofia que com a sua equipe de funcionários, estagiários e pós-graduandos cuidam tão bem da seleção dos nossos doadores.*
- * *À Cida, pela dedicação e entusiasmo com o trabalho em nosso laboratório.*
- * *À Malu e à Sandrinha pelo carinho e apoio que sempre nos proporcionaram e que nos ajudam a manter o bom padrão estético e didático dos nossos trabalhos.*
- * *À Renata e sua equipe do Serviço de Audio Visual da Faculdade de Ciências Médicas, pela competente e atenciosa ajuda na editoração gráfica deste trabalho.*
- * *À equipe de enfermagem da unidade de internação e ambulatório do serviço de TMO pelo competente e afetuoso cuidado dedicado aos nossos pacientes.*
- * *À Silvia, que tão cuidadosamente zela pelo estado nutricional dos nossos pacientes.*
- * *À Margareth, pela dedicação e empenho em tornar a vida dos nossos pacientes menos sofrida durante o período de internação, mantendo-os ocupados.*

- * *À **Lucélia**, assistente social que tem tornado possível o transplante para muitos pacientes com a sua dedicação e interesse genuíno em ajudar.*
- * *À **Sandra Costa**, pela ajuda de valor inestimável na propedêutica de infecções por CMV em nossos pacientes.*
- * *Ao **Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas do Hospital de Clínicas** pelo competente apoio diagnóstico aos nossos pacientes.*
- * *Aos diversos **setores operativos e serviços de especialidades do Hospital de Clínicas** diretamente envolvidos no cuidado dos nossos pacientes.*
- * *A todos os **funcionários administrativos e de apoio do Hemocentro** pelo apoio ao nosso programa.*
- * *À **Silvana e Arlete**, secretárias da coordenadoria, pela colaboração e gentileza que sempre dedicaram ao Serviço de TMO.*
- * *Aos superintendentes do Hospital de Clínicas, **Prof. Luís Jacinto da Silva (atual)** e **Prof. Paulo Eduardo Moreira Rodrigues da Silva (anterior)**, pela constante cooperação, suporte e respeito dedicados ao nosso serviço.*
- * *E, finalmente, aos nossos **pacientes e doadores** que compreenderam a complexidade do procedimento proposto, aceitaram correr riscos pessoais, e que muito nos têm ensinado, não somente com os seus "casos" mas também com as suas atitudes e reações diante dos rigores impostos por um transplante de medula óssea.*



Sumário

| | |
|---|-----------|
| RESUMO..... | i |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1. Considerações gerais..... | 2 |
| 1.2. Características das células-tronco periféricas mobilizadas por rhG-CSF..... | 5 |
| 1.2.1. Características imunofenotípicas e funcionais..... | 5 |
| 1.2.2. Células acessórias às CTP no produto de aférese..... | 6 |
| 1.2.3. Número de linfócitos T no produto de aférese..... | 7 |
| 1.2.4. Transplantes de CTP alogênicas em modelos animais..... | 8 |
| 1.2.5. Transplantes de CTP alogênicas em humanos..... | 9 |
| 1.2.5.1. Coleta de CTP em doadores normais após administração de rhG-CSF..... | 9 |
| 1.2.5.2. Toxicidade do rhG-CSF..... | 9 |
| 1.2.5.3. Comparação dos riscos de coleta cirúrgica de medula óssea e de CTP obtidas por aférese..... | 11 |
| 1.2.5.4. Quantidades de CTP para transplantes alogênicos..... | 12 |
| 1.2.5.5. Resultados de transplantes alogênicos com CTP..... | 14 |
| 1.2.5.5.1. Recuperação medular..... | 14 |
| 1.2.5.5.2. Doença do enxerto-contra-o-hospedeiro (DECH)..... | 15 |
| 1.2.5.5.3. Evolução pós-transplante e sobrevida..... | 16 |
| 1.2.5.5.4. Transplantes com CTP em pacientes com recidiva após TMO..... | 16 |
| 1.2.5.5.5. Transplantes com CTP após “falha de pega”..... | 17 |
| 1.2.5.5.6. Transplantes com CTP após rejeição de medula óssea..... | 17 |
| 2. OBJETIVOS..... | 19 |

| | |
|--|----|
| 3. CASUÍSTICA E MÉTODOS..... | 21 |
| 3.1. Seleção de pacientes..... | 22 |
| 3.1.1. Inclusões..... | 25 |
| 3.1.2. Exclusões..... | 25 |
| 3.2. Seleção de doador..... | 25 |
| 3.2.1. Inclusões..... | 25 |
| 3.2.2. Exclusões..... | 26 |
| 3.3. Monitorização clínica de doadores e receptores..... | 26 |
| 3.4. Plano de tratamento..... | 26 |
| 3.4.1. Condicionamento..... | 27 |
| 3.4.1.1. Radioterapia..... | 27 |
| 3.4.1.2. Terapia intratecal..... | 27 |
| 3.4.2. Profilaxia e tratamento de DECH..... | 27 |
| 3.4.3. Tratamento de suporte..... | 28 |
| 3.4.3.1. Profilaxia e tratamento das infecções..... | 28 |
| 3.4.3.2. Profilaxia e tratamento das complicações hemorrágicas, transfusões de plaquetas e de hemácias..... | 29 |
| 3.4.3.3. Suporte nutricional..... | 29 |
| 3.4.3.4. Utilização de fatores de crescimento hematopoéticos pós-transplante..... | 30 |
| 3.4.3.5. Critérios utilizados para a definição de “pega” da medula óssea e da falha de “pega”..... | 30 |
| 3.5. Mobilização e coleta de CTP..... | 30 |
| 3.5.1. Mobilização das CTP por rhG-CSF..... | 30 |
| 3.5.2. Coleta de CTP por aférese..... | 31 |
| 3.5.2.1. Materiais e técnicas..... | 31 |
| 3.5.3. Infusão de CTP..... | 31 |
| 3.5.4. Considerações estatísticas..... | 32 |

| | |
|---|----|
| 4. RESULTADOS..... | 35 |
| 4.1. Efeitos da mobilização e coleta de CTP por aférese em doadores normais..... | 36 |
| 4.2. Recuperação hematopoética após transplante com CTP alogênicas..... | 38 |
| 4.3. Doença do enxerto-contra-o-hospedeiro aguda e crônica após transplante com CTP alogênicas..... | 40 |
| 4.4. Morbidade inespecífica dos transplantes com CTP alogênicas..... | 41 |
| 4.5. Sobrevida global após transplante com CTP alogênicas..... | 41 |
| 4.6. Resultados gerais dos transplantes de medula óssea utilizados para comparações com os transplantes de CTP alogênicas..... | 43 |
| 4.7. Análise comparativa entre parâmetros clínicos e laboratoriais dos pacientes que receberam transplantes com CTP e medula óssea..... | 45 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 46 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 54 |
| 7. SUMMARY..... | 57 |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 60 |
| 9. ANEXOS..... | 73 |
| Anexo 1 - Termos de Consentimento..... | 74 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-FU: 5-Fluorouracil

a-DECH: doença do enxerto-contra-o-hospedeiro aguda

AA: anemia aplástica

ATG: globulina anti-timocítica

Bu: bussulfano

c-DECH: doença do enxerto-contra-o-hospedeiro crônica

CD34: “cluster designation”

CFU-GM: unidade formadora de colônias de granulócitos e macrófagos

CMNT: células mononucleadas totais

CMV: citomegalovírus

CNT: células nucleadas totais

CSA: ciclosporina A

CTP: células-tronco periféricas

Cy: ciclofosfamida

dL: decilitro

DLA: antígenos leucocitários caninos

FHCRC: “The Fred Hutchinson Cancer Research Center”

GM-CSF: fator estimulador de crescimento de colônias de granulócitos e macrófagos

Gran: granulócitos

HC: Hospital de Clínicas

HEPA: “high-efficiency-particulate-air (filters)”

HIV: vírus da imunodeficiência humana

HLA: antígenos leucocitários humanos

HPN: hemoglobinúria paroxística noturna

HTLV-I: vírus linfocitotrópico T humano do tipo I

L: litro

LLA: leucemia linfóide aguda

LMA: leucemia mielóide aguda

LMC: leucemia mielóide crônica

LNH: linfomanão-Hodgkin

Metil-Pred: metil-prednisolona

mg: miligrama

mL: mililitros

MTX: metotrexato

NK: “natural killer”

NC: não comparável

NP: nutrição parenteral

Pred: prednisona

rhG-CSF: fator estimulador de crescimento de colônias de granulócitos recombinante humano

SMD: síndrome mielodisplástica

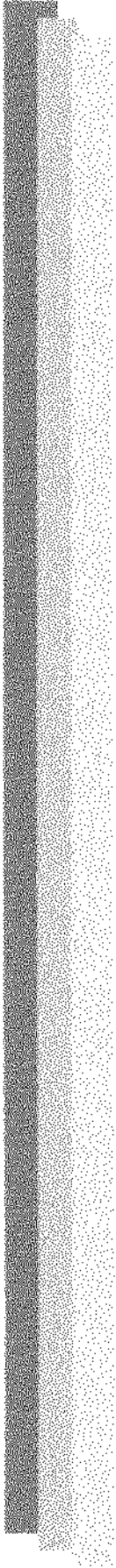
TMO: transplante de medula óssea

UNICAMP: Universidade Estadual de Campinas

UPN: número único do paciente

V & B: vivo e bem

VP-16: etoposídeo



Resumo

Transplantes autoplásticos de células-tronco periféricas (CTP) já vêm sendo realizados há algum tempo, tendo mostrado algumas vantagens em relação aos transplantes do mesmo tipo que utilizam medula óssea. Dentre estas vantagens, destaca-se a capacidade das CTP de produzir uma “pega” mais rápida do enxerto, encurtando o período de aplasia de medula óssea que se segue ao condicionamento do paciente. A coleta de CTP por aférese oferece maior conforto ao doador, que não precisa ser submetido à anestesia geral e às numerosas punções da crista ilíaca necessárias à obtenção do número de células suficientes para o transplante.

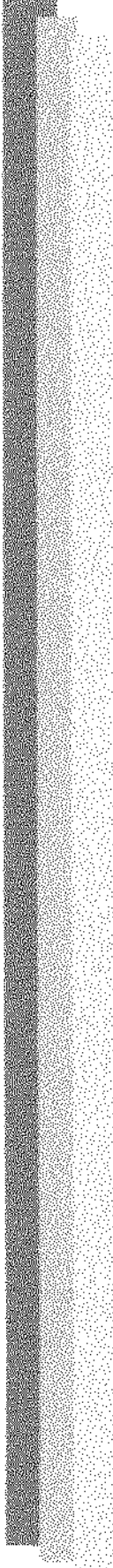
Apesar das evidentes vantagens observadas no cenário autoplástico, a aplicação da mesma técnica aos transplantes alogênicos só se iniciou no começo dos anos 90. Este retardo se deveu ao temor de que os enxertos de CTP alogênicas, mais ricos em células T imunocompetentes, pudessem acarretar aumentos na incidência e gravidade da doença do enxerto-contra-o-hospedeiro (DECH). Outro empecilho à realização desses transplantes é a necessidade de mobilização das CTP para a circulação sanguínea, que se fez possível nos transplantes autoplásticos, inicialmente, pelo uso de quimioterápicos citotóxicos; tal prática seria eticamente condenável em doadores sadios e, só mais recentemente, os fatores de crescimento hematopoiético humanos, obtidos por tecnologia de recombinação gênica (rhG-CSF), ofereceram uma alternativa mais segura para conseguir essa mobilização.

Neste estudo, não controlado analisamos os resultados de dezessete transplantes alogênicos de CTP, comparando-os com aqueles obtidos em um grupo-controle que recebeu, contemporaneamente, transplantes alogênicos convencionais de medula óssea. O objetivo foi o de se estudar, comparativamente, o perfil de “pega” dos enxertos de CTP,

assim como a morbidade associada ao procedimento. Para tanto, foram comparados vários parâmetros entre os dois grupos, que incluíram: tempo de “pega” do enxerto, tempo de permanência no hospital após o transplante, necessidade de transfusões, número de dias em uso de antimicrobianos ou nutrição parenteral, níveis séricos máximos de creatinina e bilirrubina, incidência e gravidade de DECH aguda, entre outros. Procuramos avaliar ainda os eventuais efeitos colaterais a curto prazo do rhG-CSF nos doadores.

Os resultados mostraram que a incidência e gravidade da DECH aguda foram comparáveis entre os dois grupos, assim como a morbidade geral relacionada ao transplante. De fato, os transplantes com CTP apresentaram “pega” mais rápida e permitiram alta hospitalar mais precoce. A mobilização de CTP pelo uso de rhG-CSF e sua obtenção por sessões únicas de aférese mostraram-se, no período estudado, livres de efeitos colaterais ou complicações clínicas sérias para os doadores. O número de células foi suficiente para garantir a “pega” e estabilidade do enxerto em todos os pacientes, não se observando rejeições ou “falhas de pega”.

Aparentemente, as vantagens oferecidas pelas CTP em transplantes autoplásticos também se aplicam aos transplantes alogênicos. Os resultados sugerem ser a técnica viável, porém devem ser interpretados com cautela devido às limitações metodológicas do estudo, que incluem o curto tempo de seguimento dos pacientes e a realização de análise de dados de grupos de pacientes distribuídos sem “randomização”.



*“Não convém a gente levantar escândalo de começo:
só aos poucos é que o escuro é claro.”*

*Guimarães Rosa
“Grande Sertão: Veredas”*

1. Introdução

1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os transplantes de medula óssea alogênicos, singênicos e autoplásticos são utilizados, desde os anos 60, como tratamento para diversos tipos de doenças. Atualmente, estes procedimentos já entraram na corrente principal da terapêutica médica, tornando-se a opção, de primeira escolha, para o tratamento de muitos pacientes, portadores de doenças hematológicas (CHAMPLIN *et al.*, 1990).

O desenvolvimento das técnicas de transplante de medula deu-se através de um processo lento. Ao mesmo tempo, usufruiu de conhecimentos adquiridos em diversas áreas científicas e, promoveu e estimulou inúmeras linhas de pesquisa que formaram muitos dos conceitos atuais nas áreas de Imunologia, Hematologia, Oncologia, Infectologia e Imunogenética, dentre outras.

Desde o início do desenvolvimento dos transplantes, a medula óssea tem sido a fonte padrão de células para recuperar a linfo-hematopoese, após terapia mieloablativa. No entanto, muitas vezes a coleta de medula óssea torna-se difícil, ou até mesmo inviável devido a problemas médicos do doador ou às dificuldades mecânicas da aspiração, seja porque a medula está acometida pela doença de base ou por ter sido a mesma extensamente irradiada, no caso de transplantes autoplásticos. A aspiração de medula óssea, por agulhas, é dolorosa e requer alguma forma de anestesia para ser realizada com tranquilidade (BUCKNER *et al.*, 1994). Estas dificuldades estimularam a busca de outras fontes de células hematopoiéticas, alternativas à medula óssea. As células-tronco que circulam pelo sangue periférico (CTP) têm sido as mais utilizadas em substituição à medula óssea.

As células-tronco, obtidas por coleta através de aférese do sangue periférico, após mobilização por fatores de crescimento hematopoiéticos, têm substituído a medula óssea, em transplantes autoplásticos, com sucesso (BENSINGER *et al.*, 1993). Dados obtidos em animais, mostram que as CTP alogênicas podem promover hematopoese prolongada multilinear (TO *et al.*, 1992; MOLINEUX *et al.*, 1990). As células-tronco periféricas autoplásticas, são coletadas após mobilização por fatores de crescimento hematopoiético e/ou quimioterapia. Já que no estado natural seu número é pequeno, e resultam em “pega” imediata e duradoura do enxerto, comparável à obtida com células singênicas e alogênicas (BUCKNER *et al.*, 1993; DREGER *et al.*, 1994; HUNTER *et al.*,

1994; KESSINGER *et al.*, 1989; KESSINGER *et al.*, 1993; MATSUNAGA *et al.*, 1993; MOLINEUX *et al.*, 1990; NEUMUNAITIS *et al.*, 1993; RUSSEL *et al.*, 1993; WEAVER *et al.*, 1993,).

O uso de CTP alogênicas mobilizadas por fator de crescimento e/ou quimioterapia, para restaurar a linfo-hematopoiese após o tratamento mieloablativo, pode oferecer muitas vantagens sobre o procedimento padrão, que utiliza a medula óssea. A doação das células pode ser realizada sem cirurgia ou, no máximo, com a colocação de um cateter central. Este procedimento é pouco invasivo, sem a necessidade de internação do doador e sem a morbidade relacionada à anestesia geral e à aspiração de um grande volume de medula óssea. Pode permitir, também, a utilização de doadores com contra-indicações médicas para a cirurgia, e permite, ao doador, retomar as suas atividades imediatamente. Isto, pode contribuir para uma maior disposição para doação de células, mesmo para um receptor desconhecido, aumentando, assim, a possibilidade de transplantes com doadores não-aparentados.

Do ponto de vista do receptor, o uso de CTP tem se mostrado vantajoso nos transplantes autoplásticos, já que promove uma recuperação medular mais rápida, com um período menor de pancitopenia e de risco de complicações relacionadas. Permite ainda, um menor tempo de internação e menor utilização de transfusões e drogas antimicrobianas (BENSINGER *et al.*, 1993). Isto, também pode reduzir os custos com a internação e, permitir a otimização do uso dos recursos dos programas de transplante de medula óssea.

Há evidências de que a recuperação da função medular, após o transplante com CTP alogênica seja mais rápida do que no TMO convencional (AZEVEDO *et al.*, 1994; RUSSEL *et al.*, 1995). Além disso, são capazes de assegurar a “pega” completa e duradoura do enxerto, em receptores alogênicos. Estas evidências, derivam da grande experiência adquirida com os transplantes autoplásticos e com poucos casos de transplantes com CTP, já realizados em receptores alogênicos e singênicos (AZEVEDO *et al.*, 1994; DREGER *et al.*, 1993; BUCKNER *et al.*, 1993; DREGER *et al.*, 1993; HUNTER *et al.*, 1994; KESSINGER *et al.*, 1989; NEUMUNAITIS *et al.*, 1993; BENSINGER *et al.*, 1995).

O primeiro transplante alogênico, bem sucedido, utilizando CTP mobilizadas por rhG-CSF e coletadas de um doador normal, foi realizado em 1991 como tratamento de um caso de “falha de pega”, resistente à infusão de medula óssea, por duas vezes consecutivas (DREGER *et al.*, 1993). Neste caso, o doador se recusou a uma terceira cirurgia, para aspiração de medula óssea. Este paciente continua vivo e em remissão completa de sua doença, quatro anos após a infusão de CTP (BENSINGER *et al.*, 1995). A primeira publicação, relatando transplante alogênico com CTP mobilizadas por rhG-CSF, é de autoria de Russel (1993). Este paciente apresentava uma leucemia linfoblástica e foi condicionado com radioterapia corporal total e ciclofosfamida, seguidas de infusão de CTP. Além disso, recebeu a ciclosporina e o metotrexato como profilaxia de doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH). A “pega” do transplante foi completa e o paciente se encontra vivo, em remissão completa e sem sinais de DECH, mais de 24 meses após o transplante (BENSINGER *et al.*, 1995). A utilização de CTP, neste caso, deveu-se à obesidade extrema do doador, que impedia a obtenção cirúrgica de medula óssea.

Estes dois relatos de transplante com CTP alogênica, e o sucesso de transplantes com CTP singênica (WEAVER *et al.*, 1993), levaram a um grande interesse pelo desenvolvimento e aplicação desta técnica em receptores alogênicos. Muitos transplantes utilizando CTP alogênicas foram realizados desde então, inclusive no Brasil (AZEVEDO *et al.*, 1994), mostrando a viabilidade do procedimento e a estabilidade da restauração da linfopoiiese, após de mais de quatro anos, em alguns casos.

O uso de rhG-CSF, para mobilizar células-tronco para a circulação, tem se mostrado seguro, até agora, tendo sido extensivamente utilizado em pacientes submetidos à quimioterapia, em candidatos ao transplante autoplástico e em alguns doadores de células para transplantes singênicos e alogênicos (BENSINGER *et al.*, 1994; MAJOLINO *et al.*, 1995; ROZMAN *et al.*, 1995; SCHIMITZ *et al.*, 1995). Os seus efeitos colaterais são toleráveis, o que torna a escolha técnica e eticamente razoável para utilização em doadores saudáveis (DREGER *et al.*, 1994).

A administração de doses relativamente altas de rhG-CSF, em doadores normais de leucócitos tem sido segura e não se descreveram efeitos colaterais agudos ou tardios de maior importância (SCHWINGER *et al.*, 1993). Muitos destes doadores têm sido acompanhados por mais de quatro anos, sem qualquer manifestação desfavorável (WEAVER *et al.*, 1993).

Uma preocupação, em relação ao uso de CTP alogênicas, é a possibilidade de aumento da incidência e da gravidade da doença enxerto-contra-o-hospedeiro (DECH). Tal fato pode ocorrer pois, o número de linfócitos presente no produto da aférese, quando comparado à medula óssea obtida por aspiração com agulhas, é muito maior (SCHWINGER *et al.*, 1993, BENSINGER *et al.*, 1993). Contudo, até hoje, não está claramente entendido o que acontece com a função e a regulação linfocitária, quando mobilizamos as células com rhG-CSF. Não há uma definição clara sobre qual seria o limiar do número de linfócitos, responsável pela maior frequência e gravidade da DECH. Tão pouco, existem evidências seguras e comprovadas de que realmente seja possível estimular a DECH humana, com a utilização de CTP em receptores alogênicos. Os resultados dos transplantes alogênicos, realizados até agora, sugerem que esta técnica pode produzir uma “pega” mais rápida do que a observada com medula óssea e, contrariando as expectativas iniciais, a incidência e a gravidade da DECH aguda têm sido toleráveis (AZEVEDO *et al.*, 1994, BENSINGER *et al.*, 1995). Além do seu uso como fonte primária de células-tronco, as CTP têm sido usadas, com ou sem condicionamento, para correção de “falha de pega” (DREGER *et al.*, 1993) bem como para potencializar a “pega” de transplantes medulares convencionais, como reforço do número de células hematopoéticas infundidas (NEUMUNAITS *et al.*, 1995).

1.2. CARACTERÍSTICAS DAS CÉLULAS-TRONCO PERIFÉRICAS MOBILIZADAS POR RHG-CSF.

1.2.1. Características imunofenotípicas e funcionais

Rice e Reiffers (1992), estudaram as células obtidas de produtos de aférese de pacientes estimulados com rhG-CSF. Demonstraram que, há uma mistura de células primitivas e de células já comprometidas com as linhagens celulares específicas, e que não

são muito diferentes das células encontradas na medula óssea. A análise dos antígenos de superfície destas células mostra que são semelhantes às células CD34+, derivadas da medula óssea e incluem as seguintes subpopulações: CD34+/ CD33-, CD34+/HLA DR+, CD34+/HLA DR- e CD34+/CD33+ (BENDER *et al.*, 1991; TO *et al.*, 1994). Em humanos, o rhG-CSF mobiliza as células que são resistentes ao 5-Fluorouracil (5-FU) e, em cultura, seleciona progenitores hematopoiéticos, similares aos obtidos de medula óssea (RICE *et al.*, 1993). Estas células, resistentes ao 5-FU, são também capazes de reprodução e expansão, *in vitro*, se estimuladas por citocinas apropriadas (RICE *et al.*, 1995). Estes dados provêm evidência circunstancial de que as CTP, mobilizadas por rhG-CSF, contém células progenitoras hematopoiéticas primitivas, no seu conjunto. Recentemente, Mcquaker (1995) e Scott (1994), demonstraram que células CD34+, coletadas do sangue periférico de pessoas que receberam rhG-CSF, diferem em termos de expressão de moléculas de adesão, em potencial proliferativo e em resposta a citocinas. Estas características, isoladamente ou em conjunto, podem propiciar vantagens às CTP por, talvez, serem mais eficientes em se estabelecer ("homing") no microambiente medular e serem mais responsivas aos sinais proliferativos e funcionais aí gerados. Apesar dos avanços no conhecimento relacionado aos transplantes com as CTP alogênicas, muitos estudos são ainda necessários para que se definam as diferenças quantitativas e qualitativas entre as CTP e as células-tronco da medula óssea. Além disso, é necessário entender até que ponto estas diferenças podem influenciar na cinética da reconstituição hematopoética e determinar se, estas diferenças, são relacionadas e/ou dependentes, do fator de crescimento utilizado para a mobilização das células.

1.2.2. Células acessórias às CTP no produto de aférese

A rápida recuperação medular, após o uso das CTP pode não ser devida somente a diferenças qualitativas entre as células CD34+, contidas no produto de aférese e na medula óssea. As células acessórias, grupo que compreende todas as células que compõe o "micro ambiente" medular física e/ou funcionalmente, que podem estar presentes em número aumentado ou ser qualitativamente mais eficientes para estimular o microambiente hematopoiético medular, podem se constituir em importantes elementos para o fenômeno de recuperação, nos transplantes com as CTP. Existem evidências de que células do estroma

medular, quando cultivadas com células mononucleadas do sangue periférico de pacientes estimulados com rhG-CSF, produzem até dez vezes mais IL-6 e rhG-CSF, do que na presença de células mononucleadas da medula óssea (BENSINGER *et al.*, 1995). Estudos visando definir melhor o papel destas células na recuperação hematopoiética, ainda são necessários.

1.2.3. Número de linfócitos T no produto de aférese

O número de linfócitos T, encontrado no produto de aférese é muito maior do que no aspirado de medula óssea, chegando a ser de um a dois logaritmos maior. A tabela 1, mostra um exemplo deste fato (WEAVER *et al.*, 1994; BENSINGER *et al.*, 1995).

Tabela 1: *Composição da população de linfócitos*

| Fenótipo | Medula Óssea N = 18 x 10 ⁶ /kg ² | CTP ¹ N = 25 x 10 ⁶ /kg ² |
|----------|---|---|
| CD34+ | 4,1 (0,6 - 5,7) | 11,1 (6,9 - 21,0) |
| CD3+ | 31 (10 - 65) | 419 (81 - 846) |
| CD4+ | 19 (1 - 47) | 224 (45 - 975) |
| CD8+ | 10 (1 - 24) | 126 (73 - 355) |

¹ CTP = Células-Tronco Periférica

² x 10⁶/kg de peso corporal do receptor

(Reproduzido de BENSINGER *et al.* 1995)

Os dados, sobre o aumento do número de linfócitos T no sangue periférico, são às vezes conflitantes. O grupo de Seattle, por exemplo, não demonstrou um aumento significativo na contagem destas células, no sangue periférico, em pessoas que receberam 16 µg/Kg de rhG-CSF (WEAVER *et al.*, 1994). Outros pesquisadores (MATSUNAGA *et al.*, 1993; KÖRBLING *et al.*, 1995; DREGER, *et al.*, 1994), demonstraram que as células T e

NK estão aumentadas, tanto no sangue quanto no produto de aférese, a ser administrado ao receptor.

A quantidade de linfócitos T infundidos no receptor, vai depender diretamente do número de sessões de aférese necessárias à obtenção do número de células, previsto para o transplante. Portanto, um esforço no sentido de aumentar o número de células CD34+ em cada coleta, é necessário para minimizar a quantidade de linfócitos T infundidos. A manipulação do produto de aférese, com o objetivo de selecionar especificamente as células CD34+ ou de reduzir o número de linfócitos, é área ativa de investigação atual e pode determinar soluções para problemas, tais como; a DECH, a rejeição, as recaídas e a reconstituição imunológica pós-transplante.

1.2.4. Transplantes de CTP alogênicas em modelos animais

Storb (1967) e Carbonell (1984), relataram transplantes bem sucedidos, em cães, utilizando as CTP, sem a utilização de fatores de crescimento hematopoiético. Mollineux (1990), relatou o primeiro estudo sobre transplantes de CTP, mobilizadas por rhG-CSF, em um modelo animal e que utilizava camundongos singênicos, de diferentes sexos. Com isso, se poderia avaliar o “quimerismo”. Este estudo demonstrou a presença de reconstituição duradoura da hematopoese, até 192 dias após o transplante. Não conhecemos outro estudo, em modelo murino, que utilizasse animais alogênicos, em risco de DECH e/ou rejeição.

Experimentos em cães têm sido utilizados há muito tempo, pelo grupo de Seattle, para o estudo dos fenômenos relacionados aos transplantes medulares, tanto autoplásticos quanto alogênicos. Sandmaier (1994) demonstrou que, neste modelo, o comportamento das CTP caninas, mobilizadas por G-CSF, também canino, é bastante semelhante ao das células da medula óssea, tanto no que diz respeito à recuperação medular quanto as incidências de DECH e rejeição. Gratwohl (1994), em outro modelo animal utilizando coelhos, demonstrou que a reconstituição hematopoética, após transplantes com CTP alogênicas, pode ocorrer, mesmo em animais com incompatibilidade genética. A incidência e a gravidade da DECH foram comparáveis à utilização de medula óssea.

Considerados em seu conjunto, os dados obtidos em modelos animais, embora limitados, nos permitem supor que as CTP alogênicas promovem a recuperação medular tão ou mais eficientemente do que com a medula óssea, e não causam mais DECH, apesar da maior infusão de linfócitos.

A extrapolação destes dados para transplantes em humanos, deve ser feita com cautela, pois, estes dados são ainda muito preliminares.

1.2.5. Transplantes de CTP alogênicas em humanos

1.2.5.1. Coleta de CTP, em doadores normais, após administração de rhG-CSF

O uso extenso de rhG-CSF, para mobilização das CTP para transplantes autoplásticos, propiciou o acúmulo de um grande acervo de dados sobre a segurança e a eficiência do uso deste fator de crescimento (BENSINGER *et al.*, 1993; BENSINGER *et al.*, 1994). A utilização das técnicas de aférese, já faz parte da rotina quase todos os serviços de hemoterapia, de hospitais de grande porte. A segurança e a eficiência dos procedimentos de aférese, para coleta das CTP, são reconhecidas (RUSSEL *et al.*, 1995). No entanto, a realização de procedimentos de aférese prolongados e que processem grandes volumes de sangue pode produzir trombocitopenia grave, colocando o doador sob risco de sangramentos. Além disso, é um procedimento desconfortável e que determina a infusão de grande volume de anticoagulante, durante sua realização.

1.2.5.2. Toxicidade do rhG-CSF

Embora já se disponha, para uso clínico ou experimental, de vários fatores de crescimento hematopoéticos capazes de mobilizar as CTP alogênicas, o rhG-CSF é o mais empregado. Esta escolha, certamente se deve ao fato de ser a droga bastante conhecida, devido a sua extensa utilização em transplantes autoplásticos, onde foi amplamente demonstrada a sua eficiência e segurança (AVERSA *et al.*, 1994; BACIGALUPO *et al.*, 1995; BUCKNER *et al.*, 1993; DREGER *et al.*, 1994; DIPERSIO *et al.*, 1994;

FRIEDRICH *et al.*, 1995; FRITSCH *et al.*, 1994; GURMAN *et al.*, 1995; HUNTER *et al.*, 1994; LANE *et al.*, 1995; LAPORTE *et al.*, 1994; LINK *et al.*, 1995; MAJOLINO *et al.*, 1994; MAJOLINO I *et al.*, 1995; MATSUNAGA *et al.*, 1993; NEUMUNAITIS *et al.*, 1993; NEUMUNAITIS *et al.*, 1994; MATSUNAGA *et al.*, 1993; ODLON *et al.*, 1994; RUSSELL *et al.*, in press; ROZMAN *et al.*, 1995; SASAKI *et al.*, 1994; SUZUE *et al.*, 1994; TANAKA *et al.*, 1994; WEAVER *et al.*, 1993; WIESNETH *et al.*, 1995).

A administração de doses de até 16 µg/Kg em doadores normais, tem sido bem tolerada. Os efeitos colaterais mais significativos são: cefaléia, dores ósseas, mialgia e sintomas semelhantes à um resfriado (ANASETTI *et al.*, 1989; ARSENIIEV *et al.*, 1995; BOLGER *et al.*, 1986; BUCKNER *et al.*, 1994; CORRINGHAM *et al.*, 1995; DREGER *et al.*, 1995; KERNAN *et al.*, KOOK *et al.*, 1995; 1994; MARTÍNEZ *et al.*, 1995; OLINA *et al.*, 1995; NASH *et al.*, 1995; NIEDERWIESER *et al.*, 1988; O'REILLY *et al.*, 1988; PAGLIUCA *et al.*, 1995; RUSSELL JA *et al.*, 1995; RUSSELL *et al.*, 1995; SCHMITZ *et al.*, 1995; SICA *et al.*, 1995; STONE *et al.*, 1994; STORB *et al.*, 1994). A leucocitose, principalmente neutrofilica, é prontamente revertida após a suspensão da droga, assim como, os sintomas constitucionais que ela provoca. A trombocitopenia pode ocorrer, independentemente da realização de aférese, quando se administra rhG-CSF. Isto deve ser motivo de atenção em doadores normais, nos quais se prescreve esta droga (KIEM *et al.*, 1994; NASH *et al.*, 1995). Os mecanismos responsáveis por este fenômeno também são obscuros.

Alguns pacientes submetidos a transplante autoplástico, têm apresentado quadros de síndromes mielodisplástica após longo período de sobrevida (BENSINGER *et al.*, 1995). É possível que a administração de fatores de crescimento hematopoético, possa contribuir para estes quadros, assim como a utilização de radioterapia e quimioterapia no condicionamento.

1.2.5.3. *Comparação dos riscos de coleta cirúrgica de medula óssea e de CTP obtidas por aférese*

Os fatores de crescimento hematopoiético são drogas novas, muito potentes e de mecanismos de ação ainda pouco compreendidos. Atuam em sistemas complexos, e relativamente pouco conhecidos, como o hematopoético e o imunológico. A estimulação farmacológica da hematopoese preocupa, devido à possibilidade de se induzir futuros distúrbios proliferativos, incluindo as síndromes mielodisplástica e as leucemias. Estas complicações potenciais, são de difícil avaliação, em transplantes autoplásticos. Isto se deve ao fato de que os pacientes já apresentam doença medular de base ou foram submetidos a tratamento quimioterápico ou radioterápico, que podem provocar alterações tipo mielodisplásicas (STONE *et al.*, 1994).

O rhG-CSF já foi administrado para mais de sessenta doadores sadios para obtenção de leucócitos, no “FHCRC, Seattle, USA”, com finalidade transfusional. Embora o seguimento destes doadores tenha sido apenas por curto período de tempo, não se tem notícias de problemas hematológicos, relacionados ao uso da droga (BENSINGER *et al.*, 1995).

Certamente, a definição segura da ausência ou da presença de efeitos colaterais de longo prazo, atribuíveis ao uso de rhG-CSF demandará um tempo grande de observação.

A doação de CTP, por aférese, requer um acesso venoso adequado. Os doadores com veias periféricas inadequadas ao procedimento, podem requerer a colocação de um cateter central de duplo lúmen e de grande calibre, para viabilizar a realização do procedimento. A colocação e uso destes cateteres podem ocasionar sangramentos, pneumotórax, flebotromboses e tromboflebites, dentre outras complicações.

Bensinger (1995), relatou a ocorrência de um episódio de infarto agudo do miocárdio, após a realização de uma sessão de aférese, para doação de CTP. O doador tinha história prévia de doença cardíaca. A realização de anestesia geral para coleta tradicional de medula óssea, havia sido contraindicada.

As vantagens para o doador a doação de CTP em relação à de medula óssea, incluem: a viabilidade da realização do procedimento a nível ambulatorial; o maior conforto

após a doação; a possibilidade de retorno imediato às atividades habituais; a ausência da necessidade de uma anestesia geral; da necessidade potencial de recebimento de uma transfusão de sangue e a ausência das possíveis complicações associadas à aspiração cirúrgica de grandes volumes de medula óssea. Estas últimas complicações incluem a hipotensão arterial, a hipovolemia, as infecções e a dor no pós operatório (BUCKNER *et al.*, 1994). No entanto, ainda não está claro se estas vantagens superam os eventuais riscos envolvidos na coleta e mobilização de CTP, e este ponto ainda permanece como objetivo de estudos.

No momento, é difícil assumir hoje que, para o doador, a doação de CTP seja mais segura, a longo prazo, do que a de medula óssea.

1.2.5.4. *Quantidades de CTP para transplantes alogênicos*

Os transplantes de medula óssea utilizam o número de células nucleadas total. Desde o início do seu desenvolvimento, este foi o parâmetro para definir a quantidade de células a serem infundidas (THOMAS *et al.*, 1970). No entanto, muitas inovações surgiram desde então e foram incorporadas à prática médica. O transplante autoplástico, embora já em uso corrente desde o final da década de 70 (APPELBAUM *et al.*, 1978), teve o seu desenvolvimento mais acelerado a partir de meados dos anos 80. No cenário dos transplantes autoplásticos, quantidade de células infundidas é o fator determinante de uma adequada recuperação medular e portanto, muita atenção tem sido dada a este aspecto. A definição de um número mínimo de células progenitoras, necessárias para assegurar uma “pega” adequada foi objeto de muitos estudos. Apesar de ainda estarmos longe de esgotar o entendimento do assunto, já dispomos de diretrizes bem seguras que orientam as decisões clínicas. Três parâmetros têm sido utilizados como determinantes da quantidade de células a serem infundidas: o número total de células mononucleadas (CMNT); o número de células clonogênicas em cultura (CFU-GM, CFU-G) e, mais recentemente, o número de células que expressam o antígeno CD34 em sua superfície (CD34+), determinadas através de citometria de fluxo.

Os transplantes com as CTP, sejam autoplásticos, singênicos ou alogênicos, têm se baseado, principalmente, na quantidade de células CD34+, contidas no produto a ser infundido. A determinação de células clonogênicas (CFU-GM) em cultura, também é

utilizada para quantificar o inóculo de células. Este método é pouco reprodutível e de resultado demorado, não permitindo a tomada de decisões em tempo real. Bensinger (1993 e 1994), demonstrou que o número de células CD34+ é o parâmetro mais confiável para se definir as quantidades mínimas de células progenitoras, para uso em transplantes de CTP. As preocupações mais relevantes são relacionadas à velocidade e à integridade da recuperação medular (BENSINGER *et al.*, 1994). Atualmente, acredita-se que, nos transplantes autoplásticos, um mínimo de $2,5 \times 10^6$ células CD34+/Kg é necessário para se assegurar a recuperação de granulócitos e de plaquetas. As quantidades entre $2,5$ e $5,0 \times 10^6$ células CD34+/Kg de peso corporal, mostram uma recuperação de plaquetas mais lenta quando comparadas à quantidades superiores a $5,0 \times 10^6$ células. Este fato ocorre, principalmente, quando se utiliza rhG-CSF ou GM-CSF, após o transplante. Tal fato é explicado como um "desvio de linhagem" (BENSINGER *et al.*, 1995; DEAN, 1995).

Apesar disto, há relatos de casos de recuperação medular satisfatória com o uso de até $0,6 \times 10^6$ células CD34+/Kg, (BENSINGER *et al.*, 1995). Estes dados, nos fazem acreditar que, somente após o estudo de um número maior de pacientes, se poderá definir, com clareza, o mínimo de células realmente necessário para assegurar uma "pega" medular eficiente.

A administração de metotrexato, como profilaxia de DECH após o transplante, também pode determinar a necessidade de um número maior de células a serem infundidas. Além disso, o uso de células criopreservadas, também exige um número maior de células infundidas, devido a eventuais perdas ocorridas no processo de manipulação *in vitro*. Por outro lado, é possível que a administração de fatores de crescimento hematopoiéticos, isolados ou combinados, após o transplante, possa facilitar a "pega" adequada, mesmo com um pequeno número de células infundidas.

Com base nestes dados acredita-se que, nos transplantes com CTP alogênicas, um mínimo de $5,0 \times 10^6$ células CD34+/Kg de peso deva ser infundido, para se promover uma recuperação adequada da hematopoiese, até que mais informações sejam disponíveis a este respeito (BUCKNER, comunicação pessoal).

Não há na literatura uma definição clara sobre a utilização do número de CMNT para determinar a quantidade de células a ser utilizada em transplantes alogênicos com CTP.

Neste trabalho resolvemos utilizar como parâmetro o número de CMNT devido à não disponibilidade de determinação do número de células CD34+ no nosso material. A dose de 3,5 a 5,0 x 10⁸/kg do receptor foi baseada em extrapolação ao que se utiliza em transplantes autoplásticos (TO LB *et al*, 1992; OLIVIERI A *et al*, 1994).

1.2.5.5. Resultados de transplantes alogênicos com CTP

1.2.5.5.1. Recuperação medular

Desde que os primeiros transplantes singênicos e alogênicos com CTP foram relatados, (DREGER *et al.*, 1991; RUSSEL *et al.*, 1993; BENSINGER *et al.*, 1993), uma verdadeira "corrida" se instalou, com vários grupos desenvolvendo protocolos de transplantes alogênicos com CTP.

A tabela 2, apresentada abaixo (Bensinger *et al.*, 1995), mostra os dados referentes a setenta e nove pacientes que receberam transplantes alogênicos com CTP, de doadores HLA-compatíveis, como fonte única de células para resgate da medula óssea, após terapia mieloablativa. Os dados mostram uma recuperação medular satisfatória e mais rápida do que se observa com a medula óssea (BENSINGER *et al.*, 1995).

Tabela 2: Recuperação hematopoiética após transplantes com CTP alogênicas *.

| Referência | Número | Mediana > 500 Gran | Mediana > 20 X 10 ⁹ Plaquetas |
|------------|--------|-----------------------|---|
| [13] | 19 | 13 (9 - 22) | 10 (7 - 42) |
| [48] | 16 | 9 (8 - 10) | 15 (8 - 84+) |
| [57, 81] | 11 | 17 (11 - 26) | 15 (12 - 109) |
| [8] | 11 | 15 | 13 |
| [86] | 8 | 15 (12 - 23) | 19 (11 - 39) |
| [49] | 3 | 14 (9 - 18) | 45 (13 - 60) |
| [70] | 3 | 11 (10 - 12) | 14 (10 - 18) |
| [72] | 3 | 10, 20, NA | 63, 50, 16 |
| [77] | 2 | 21, 12 | 41, 12 |
| [56] | 2 | 12, 17 | 13, 18 |

* adaptada de BENSINGER *et. al*, 1995.

1.2.5.5.2. Doença do enxerto-contra-o-hospedeiro (DECH)

A tabela 3, apresentada abaixo, mostra os dados relativos à incidência e à gravidade da DECH em 73 receptores de CTP alogênicas. A maioria dos pacientes recebeu ciclosporina, metotrexato e/ou prednisona, como profilaxia para DECH. Aproximadamente metade dos pacientes desenvolveu DECH grau 2 ou maior; 17% desenvolveu graus 3 e 4, enquanto 56% dos 23 pacientes avaliáveis para DECH crônica a desenvolveram em alguma forma (BENSINGER *et al.*, 1995).

Tabela 3: DECH em transplantes com CTP alogênicas

| Referência | Número | Dech Aguda ≥ 2 | Dech Aguda ≥ 3 | Dech Crônica |
|------------|--------|---------------------|---------------------|--------------|
| [13] | 19 | 10/19 | 4/19 | 7/9 |
| [48] | 16 | 47% | NA | 5/8 |
| [8] | 10 | 4/10 | 0/10 | NA |
| [57, 81] | 8 | 4/8 | 1/8 | NA |
| [86] | 8 | 2/8 | 1/8 | NA |
| [50] | 4 | 2/4 | 1/4 | NA |
| [70] | 3 | 1/3 | 0/3 | NA |
| [72] | 3 | 2/2 | 2/2 | NA |
| [56] | 2 | 0/2 | 0/2 | NA |

* adaptada de Bensinger *et. al.*, 1995.

Estes dados e de outros pesquisadores sugerem que, a forma aguda da DECH está ocorrendo em incidência e gravidade comparáveis aos transplantes de medula óssea convencionais (AZEVEDO *et al.*, 1994; RUSSELL *et al.*, 1995).

O pequeno número de casos analisáveis, não permite ainda conclusões acerca do comportamento da DECH crônica. A com a infusão de "buffy coat" de sangue periférico, junto com a medula óssea, em pacientes transplantados devido a anemia aplástica, mostrou um aumento significativo de DECH crônica. Este fato foi atribuído às altas quantidades de linfócitos infundidos (STORB *et al.*, 1983).

1.2.5.5.3. Evolução pós-transplante e sobrevida

Atualmente, a maioria dos transplantes de CTP alogênicas, tem sido realizada em pacientes portadores de doenças avançadas, e freqüentemente refratárias, o que torna difícil a avaliação da sobrevida. A experiência dos pesquisadores "FHCRC, Seattle, USA" mostra que, dos primeiros dezenove (19) pacientes transplantados, seis (6) morreram entre os dias dezoito (18) e cento e trinta e um (131) pós-transplante por causas relacionadas ao transplante. Cinco destes pacientes, recidivaram sua doença de base e oito (8) estão vivos e em remissão. Historicamente, este grupo de pacientes teria uma expectativa de sobrevida livre de doença de, aproximadamente, 10 a 20%, após um transplante alogênico de medula óssea convencional (BENSINGER *et al.*, 1995). Outros grupos, têm mostrado resultados semelhantes, em coortes de pacientes com as mesmas características clínicas (AZEVEDO *et al.*, 1994; BENSINGER *et al.*, 1995; KESSINGER *et al.*, 1989; DREGER *et al.*, 1994; SCHMITZ *et al.*, 1995).

1.2.5.5.4. Transplantes com CTP em pacientes com recidivas após TMO

Korbling (1995), Russel (1995), Martinez (1995), descreveram alguns casos de pacientes que apresentaram recidiva após transplante alogênico de medula óssea, e receberam transplantes com CTP do mesmo doador. Os resultados sugerem que, esta

abordagem é viável, mesmo com poucos relatos. Pode-se esperar que alguns pacientes possam ser salvos por este procedimento.

1.2.5.5.5. Transplantes com CTP após falha de “pega”

Após o transplante de medula óssea, um pequeno número de pacientes apresentarão uma insuficiente função medular, apesar da presença de células do doador na medula óssea. Este fato, é geralmente de natureza complexa e de etiologia desconhecida. A simples infusão de mais medula óssea, não soluciona habitualmente, este quadro e pode provocar ou, ainda, agravar a DECH aguda (BOLGER *et. al.*, 1984).

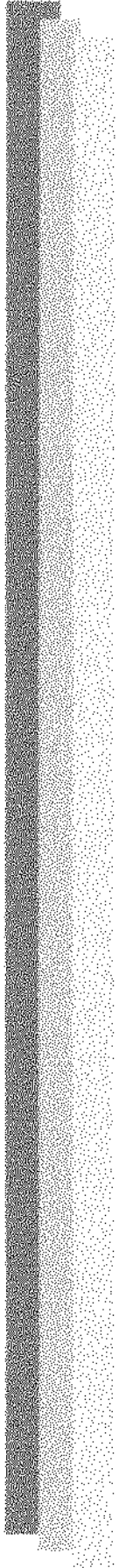
Dreger (1993), Molina (1995) e Kook (1995), descreveram alguns casos, em que o uso de CTP para o tratamento de falha de “pega” foi eficaz. A função foi medular foi restaurada e não houve alteração significativa na incidência e gravidade da DECH.

Estes achados, abrem uma perspectiva mais animadora para o tratamento da “falha de pega”. Nestes casos, os pacientes se encontram gravemente doentes para tolerarem um novo condicionamento, bem como uma segunda aspiração de medula óssea, dentro de um a dois meses após a primeira. Com frequência, este procedimento não fornece um número adequado de células para outro transplante, além de ser muito doloroso e desconfortável para o doador.

1.2.5.5.6. Transplante com CTP após rejeição de medula óssea

A rejeição imunológica da medula óssea, é definida como “falha de pega” associada à ausência de células do mesmo tanto na medula óssea quanto no sangue periférico do receptor. Esta é uma das complicações, pós-transplante, difíceis de serem tratadas. Raramente pode ser revertida sem outro condicionamento, associado à potente imunossupressão. O grupo de pesquisadores do “FHCRC, Seattle, USA”, tem estudado a infusão de CTP alogênicas associadas ao uso de anticorpos monoclonais (anti-CD3) murino e prednisolona. Em alguns casos é possível se obter a “pega” medular (BENSINGER *et al.*,

1995). Entretanto, ainda se desconhece o papel exato das CTP alogênicas nestes casos. Possivelmente, os mesmos resultados podem ser obtidos com a medula óssea, embora a viabilidade de doação nestas circunstâncias seja maior para as CTP. Na experiência daqueles pesquisadores, todos os doadores preferiram doar as CTP, quando lhes foi dada a opção de escolha, entre estas e medula óssea (BENSINGER *et al.*, 1995).

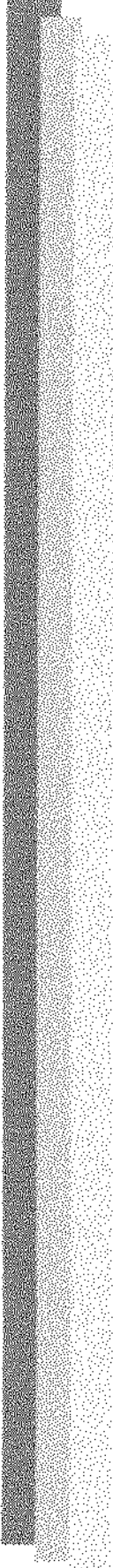


*"Medo de errar. Sempre tive.
Medo de errar é que é a minha paciência".*

*Guimarães Rosa
"Grande Sertão: Veredas"*

2. Objetivos

- A. Avaliar a viabilidade do uso de CTP, mobilizadas por rhG-CSF, para a restauração da linfo-hematopoiese, em receptores alogênicos.
- B. Avaliar a velocidade da recuperação medular, em pacientes transplantados com CTP.
- C. Avaliar a incidência e a gravidade da DECH aguda, em pacientes que receberam CTP, mobilizadas por rhG-CSF.
- D. Avaliar a morbidade e a mortalidade do procedimento relacionadas a esta modalidade de transplante para o receptor.
- E. Avaliar a influência do uso de CTP no tempo de internação, na utilização de antimicrobianos e de transfusões, após o transplante.
- F. Avaliar a toxicidade, a curto prazo, do rhG-CSF, como mobilizador de CTP, em doadores normais.
- G. Avaliar a morbidade do processo de coleta de CTP, por aférese.



*"Digo: o real não está na saída nem na chegada
ele se dispõe para a gente é no meio da travessia."*

*Guimarães Rosa
"Grande Sertão: Veredas"*

3. Material e métodos

3.1. SELEÇÃO DE PACIENTES

Este estudo, foi realizado em pacientes portadores de doenças hematológicas malignas, a maioria em fase avançada e de mau prognóstico. Os pacientes com maior risco de recaída e, relativamente menor risco de DECH compõem a população mais apropriada para estudos iniciais. Este grupo pode se beneficiar do fenômeno "enxerto-contra-leucemia" (ECL), eventualmente associado à DECH. Os pacientes portadores de LMC, são beneficiados pela ocorrência de ECL, assim como os portadores de leucemias agudas e de linfomas avançados também se beneficiam deste fenômeno, o que os coloca como candidatos adequados à participação neste estudo. É possível que haja um aumento de risco de DECH, devido ao aumento dos linfócitos T imunocompetentes, presentes nas CTP coletadas por aférese. A escolha (alocação) dos pacientes para compor o grupo de estudos foi feita baseada nos conceitos emitidos acima.

Os pacientes encaminhados ao serviço para considerações sobre o transplante de medula óssea foram avaliados no ambulatório de pré-transplante. Os doadores, em potencial, também seguiram as rotinas de avaliação clínica, laboratorial, social, odontológica e psicológica. O caso era, então, apresentado em reunião, onde a equipe de transplante discutia a respeito do procedimento, e decidia pela sua recomendação, que era então discutida amplamente com os pacientes, com os doadores e com os familiares. Todos os riscos deste procedimento foram explicados, em detalhes, assim como as incertezas, ainda presentes nesta área. O procedimento de coleta de CTP e as formas alternativas de terapia, quando existentes, foram apresentadas tão objetivamente, quanto possível, e todas as perguntas do paciente, do doador e dos familiares, foram respondidas. Antes do início do procedimento, um termo de consentimento, escrito para a realização do transplante, foi assinado pelo receptor, pelo doador e/ou pelos seus representantes legais (Anexo 1).

Os pacientes portadores de anemia aplástica não se beneficiam em nada com a ocorrência de DECH. Ao contrário o seu prognóstico está diretamente relacionado à incidência e gravidade da DECH, com um impacto negativo bem definido em suas sobrevidas. Isto torna a inclusão de portadores desta doença, em um estudo desta natureza, eticamente inaceitável, a não ser em casos de resgate após a "falha de pega" ou rejeição.

As tabelas 4 e 5, mostram os dados relacionados os grupos estudados, transplantes com CTP e medula óssea, relativos ao diagnóstico, tratamento, evolução e seguimento dos pacientes.

Tabela 4: Características dos Pacientes (CTP)

| UPN | Sexo | Idade | Diagnósticos | Condicionamento/P rofilaxia DECH | Evolução clínica | Seguimento |
|-----|------|-------|---------------------------------|-------------------------------------|----------------------|------------|
| 16 | M | 43 | LMA - Recidiva Refratária | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 412 |
| 20 | M | 41 | SMD | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 370 |
| 22 | F | 28 | LMA - 1ª Recidiva | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 350 |
| 28 | M | 52 | LMA - 1ª Recidiva Refratária | Bu/Cy2 CsA/MTX | Óbito (SEPSIS) | 81 |
| 31 | F | 42 | LMA (secundária) | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & Recaída | 258 |
| 33 | M | 16 | LLA - 4ª Recaída | Bu/Cy2/VP16 CsA/MPRED | Óbito | 59 |
| 35 | M | 19 | SMD | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 216 |
| 37 | F | 45 | LMC - FA | Bu/Cy2 CsA/MTX | Óbito | 111 |
| 41 | M | 44 | LMC - FC | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 174 |
| 42 | M | 25 | LMC - FC | Bu/Cy2 CsA/MTX | Óbito | 15 |
| 43 | M | 39 | LMC - FC | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 160 |
| 44 | M | 38 | LNH - Refratária | Bu/Cy2/VP CsA/MTX | V & Recaída | 146 |
| 47 | F | 30 | Mieloma Múltiplo | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & Recaída Local | 111 |
| 50 | M | 26 | LMC - FA | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & DECH G IV | 76 |
| 52 | M | 33 | LMA - 1ª recaída refratária | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 69 |
| 53 | F | 18 | LMA - 1ª recaída | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 48 |
| 56 | M | 31 | LMC - FC | Bu/Cy2 CsA/MTX | V & B | 20 |

♣ Até 10/05/95

Tabela 5: Características dos pacientes (M.O.)

| UPN | Sexo | Idade | Diagnósticos | Condicionamento/ Profilaxia DECH | Evolução clínica | Seguimento |
|-----|------|-------|----------------|-------------------------------------|----------------------|------------|
| 01 | F | 25 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | Óbito | 501 |
| 02 | F | 28 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 593 |
| 04 | F | 47 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 559 |
| 05 | M | 27 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | Óbito | 27 |
| 06 | M | 27 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | Óbito | 38 |
| 07 | M | 38 | HPN | Bu/Cy2 MTX/CsA | Óbito | 142 |
| 08 | M | 41 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 510 |
| 09 | F | 14 | LLA - 3ª rec | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 504 |
| 10 | M | 20 | LLA - 1ª rem | Bu/Cy2/VP16 MTX/CsA | V & B | 482 |
| 11 | F | 5 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 475 |
| 14 | M | 33 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 433 |
| 15 | F | 35 | LMA - 1ª rem | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 419 |
| 18 | M | 32 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 391 |
| 21 | M | 46 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 363 |
| 23 | F | 50 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 335 |
| 29 | F | 14 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 272 |
| 30 | M | 7 | LLA - 2ª. Rec. | Bu/Cy2/VP16 MTXCsA | V & Recaída | 265 |
| 32 | F | 38 | SMD | Bu/Cy2 MTX/CsA | Óbito | 67 |
| 34 | F | 44 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 223 |
| 51 | F | 28 | LLA-T - 1ª Rem | Bu/Cy2/VP16 MTX/CsA | V & Recaída local | 69 |
| 55 | F | 21 | LMC - FC | Bu/Cy2 MTX/CsA | V & B | 34 |

▲ Até 10/05/95

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

3.1.1. Inclusões

- A. pacientes com leucemia linfóide aguda (LLA), em primeira remissão quando de alto risco ou em fase igual ou posterior à 1ª recidiva; leucemia mielóide aguda (LMA) em qualquer fase; síndromes mielodisplásticas (SMD); leucemia mielóide crônica (LMC), em fase crônica ou acelerada; mieloma múltiplo (MM) e linfomas agressivos (LNH), em pacientes de alto risco.
- B. pacientes com idade ≤ 55 anos.

3.1.2. Exclusões

- A. pacientes > 56 anos de idade.
- B. pacientes que apresentarem sorologia positiva para o vírus HIV.
- C. pacientes grávidas.
- D. pacientes com uma depuração de creatinina < 50 ml/min; fração de ejeção do ventrículo esquerdo $< 45\%$ e provas de função pulmonar $< 60\%$ do previsto.
- E. pacientes com uma expectativa de vida gravemente limitada por outras doenças além da onco-hematológica.

3.2. SELEÇÃO DE DOADOR

Os doadores de CTP foram submetidos a um rigoroso exame clínico e a extensa avaliação laboratorial, visando garantir o máximo de segurança durante os procedimentos de mobilização e de coleta de CTP. Os seguintes critérios de inclusão e exclusão foram utilizados na seleção dos mesmos:

3.2.1. Inclusões

- A. doador HLA-idêntico nos locus A, B e DR e com cultura mista de linfócitos negativa.
- B. o doador deveria consentir com a administração de rhG-CSF.
- C. o doador deveria concordar em estar disponível para colheita de medula óssea se não ocorresse “pega” da medula óssea com CTP.
- D. doador com acesso venoso adequado para a realização de aférese ou com disponibilidade para receber um cateter venoso central.
- E. o doador não poderia apresentar qualquer antecedente de doença hematológica ou problemas orgânicos que contraindicassem o uso de rhG-CSF ou a realização de aférese.

3.2.2. Exclusões

- A. doadores em potencial que psicologicamente, fisiologicamente, ou por razões médicas são incapazes de tolerar a coleta de CTP ou de medula óssea.
- B. doador com sorologia positiva para os vírus da hepatite B (HBSAg+) ou C, vírus HTLV-I, vírus HIV e doença de Chagas.
- C. doadoras femininas com teste de gravidez positivo.
- D. doadores com menos de 40 kg de peso corporal.

3.3. MONITORIZAÇÃO CLÍNICA DE DOADORES E RECEPTORES

Os pacientes tiveram seus parâmetros clínicos anotados e classificados de acordo com as rotinas do serviço.

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.

3.4.1. Condicionamento

Os pacientes receberam como condicionamento a ciclofosfamida (CY), na dose de 120 mg/kg em 2 doses diárias e o bussulfan (BU) 16 mg/kg em 16 doses, de acordo com o protocolo descrito por TUTSCHKA (1987), e em alguns casos de neoplasias de origem linfóide associou-se o etoposíde (VP-16), na dose de 40 mg/kg, como definido no quadro abaixo:

| Dia | Tratamento |
|------------|-------------------------------------|
| -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 | CTP coleta & infusão |
| 0 | CTP coleta & infusão, se necessário |

3.4.1.1. Radioterapia

homens com LLA recebem 400 cGy nos testículos antes do dia + 100 pós-transplante.

3.4.1.2. Terapia Intratecal

Os pacientes com LLA e LMA foram submetidos a uma punção lombar diagnóstica pré-transplante. Os pacientes com doença em atividade, história de doença de SNC ou em alto risco de doença no SNC (LLA, LMA em fase avançada, LMC em fase acelerada), receberam seis doses de MTX intratecal pós-transplante começando no dia 32 e continuando a cada duas semanas, até completar seis doses.

3.4.2. Profilaxia e Tratamento de "DECH"

A DECH aguda foi classificada e estadia da de acordo com os critérios propostos por Glucksberg (1974).

Todos os pacientes receberam profilaxia de DECH com a ciclosporina A (CSA) na dose de 3,5 mg/Kg/dia/EV, em duas tomadas, associada ao metotrexato (MTX) na dose de 10 mg/m²/dia/EV e/ou metilprednisolona na dose de 2 mg/Kg/dia/EV. A administração

da CSA foi passada para a via oral (12,5 mg/Kg/dia) tão logo os pacientes foram capazes de receber o medicamento pela boca e estendida até o dia + 180 pós TMO. O resgate do efeito do MTX foi realizado com ácido folínico em todos os casos. O quadro abaixo esquematiza a profilaxia de DECH.

| Dia | Tratamento |
|-----|--------------------|
| -1 | CSA |
| 0 | CSA |
| +1 | CSA/MTX |
| +2 | CSA/Ácido Folínico |
| +2 | CSA/Ácido Folínico |
| +3 | CSA/MTX |
| +4 | CSA/Ácido Folínico |
| +5 | CSA/Ácido Folínico |
| +6 | CSA/MTX |
| +7 | CSA/Ácido Folínico |
| +8 | CSA/Ácido Folínico |
| +9 | CSA/MTX |
| +10 | CSA/Ácido Folínico |
| +11 | CSA/MTX |
| +12 | CSA/Ácido Folínico |
| +13 | CSA até dia +180 |

Os pacientes que necessitaram de tratamento para a DECH, foram inicialmente tratados com metilprednisolona, na dose de 2 mg/kg de peso, de acordo com o protocolo do serviço. Os pacientes que não responderam ao tratamento, receberam globulina antitumócica (ATG) e/ou talidomida.

Os pacientes que desenvolveram c-GVHD, foram tratados com corticosteróides e ciclosporina A, de acordo com o protocolo do serviço. Este protocolo contempla o uso de ciclosporina e prednisona inicialmente e a introdução de talidomida naqueles casos que não mostram resposta ao tratamento inicial.

3.4.3. Tratamento de suporte

3.4.3.1. 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 o fluconazol, na dose de 200 mg/dia por via oral, como profilaxia para infecções fúngicas.

- C. Sempre que o número de granulócitos caiu abaixo de 500/dl, os pacientes recebiam ceftazidima 6 g/dia, IV, como profilaxia de infecções bacterianas. As infecções bacterianas, quando ocorreram, foram tratadas de acordo com as indicações específicas de tratamento, para cada caso.
- D. O Ganciclovir foi administrado, à partir do dia +35, na dose de 5 mg/kg, três vezes por semana, até o dia +75, como profilaxia das infecções por citomegalovírus.
- E. Após a alta hospitalar, os pacientes também receberam duas doses semanais de sulfametoxazol-trimetoprim na dose de 800 mg/160 mg respectivamente, como profilaxia de infecções por *Pneumocystis carinii*.

3.4.3.2. *Profilaxia e tratamento das complicações hemorrágicas, transfusões de plaquetas e de hemácias*

- A. Os pacientes receberam transfusões profiláticas de plaquetas, somente quando o número de plaquetas foi 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 foram transfundidos sempre que os níveis de hemoglobina foram menores que 10 g/dL.

3.4.3.3. *Suporte nutricional*

Todos os pacientes receberam nutrição parenteral (NP), sempre que a ingestão de alimentos diminuiu de modo significativo. Ficando abaixo das necessidades diárias. A monitorização nutricional, foi realizada por nutricionista treinada no atendimento a doentes transplantados e os pacientes foram alimentados de acordo com as rotinas do serviço. Nelas, são utilizadas a alimentação pobre em bactérias, os complementos alimentares industrializados, para uso oral ou por sondas e a nutrição parenteral com aminoácidos, carboidratos, eletrólitos, polivitamínicos e lípidos.

3.4.3.4. Utilização de fatores de crescimento hematopoiéticos pós-transplante

Os pacientes incluídos no estudo não estavam qualificados a receber fatores de crescimento antes do dia +21. No entanto, se no dia +28 fosse caracterizada a "falha de pega", tal uso seria considerado e eventualmente realizado.

3.4.3.5. Critérios utilizados para definição de "pega" da medula óssea e da falha de "pega"

A "pega" da medula óssea foi definida como recuperação dos números de granulócitos, plaquetas e hemácias após o transplante e a repopulação da medula óssea por células hematopoiéticas visualizadas nos mielogramas realizados nos dias +21 e +56 pós TMO. Não foram analisados neste trabalho dados relativos ao estudo de quimerismo pois assumimos que o esquema de condicionamento foi suficiente para impedir a recuperação autoplástica da medula óssea.

3.5. MOBILIZAÇÃO E COLETA DAS CTP

3.5.1. Mobilização das CTP por rhG-CSF

Todos os doadores receberam cinco doses de rhG-CSF (GRANULOKINE® , Roche, São Paulo, Brasil) 10 µg/kg/dia, em dias consecutivos, entre os dia -4 e o dia 0, quando se realizava da primeira sessão de aférese. O acetaminofen, foi prescrito de rotina a todos os doadores na dose de 500 mg, para uso até de 6/6 h, em caso de cefaléia, mialgia, dores ósseas ou outros sintomas constitucionais.

Neste estudo definimos a "falha de pega" caso o paciente persistisse após o dia +28, com pancitopenia grave (menos de $0,5 \times 10^9/L$ de granulócitos, de $20 \times 10^9/L$ e dependentes de transfusões de hemácias) associada a medula óssea "vazia" na biópsia medular.

3.5.2. Coleta de CTP por aférese

3.5.2.1. materiais e técnica:

- equipamento: separadora celular de 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.
- Controles Laboratoriais:
 - pré-aférese: hemograma, plaquetas, cálcio, CD 34+ (imunofenotipagem)
 - bolsas coletadas: 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). Não foram realizadas, sistematicamente, as contagens diferenciais de leucócitos, por observador humano, nestas amostras.

Amostras para hemocultura foram enviadas ao Laboratório de Microbiologia para controle de possível contaminação bacteriana ou fúngica.

3.5.3. Infusão de CTP

Os pacientes receberam as CTP, não-modificadas, logo após a coleta, através de cateter central do tipo Hickman. Nos casos de incompatibilidade maior de grupos sanguíneos A, B, O e Rh, entre o paciente e o doador, foram realizados os procedimentos indicados, para se evitar o risco de reação transfusional (depleção de plasma ou de hemácias

no produto de aférese, ou plasmaférese no receptor). Os receptores receberam, como rotina, pré-medicação com difenidramina, na dose de 50 mg/EV, imediatamente antes da infusão.

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

3.5.4. Considerações estatísticas:

Este é um estudo de fase I/II de braço único, que teve como objetivos básicos determinar:

- a viabilidade do uso de CTP para restauração linfohematopoiética após terapia mieloablativa;
- a taxa de morbidade e mortalidade associadas ao procedimento;
- o impacto causado na incidência e na gravidade da DECH, principalmente na sua forma aguda, pelo uso de CTP alogênicas;

A participação no estudo foi voluntária, e nenhuma recompensa foi oferecida aos participantes.

O maior risco de toxicidade neste estudo é o relacionado à DECH. As formas graves da DECH (Graus III e IV) têm uma incidência de menos de 20% em pacientes que receberem a medula óssea de um doador HLA-compatível e com profilaxia da DECH com CSA + MTX. Portanto, a ocorrência de formas graves de DECH em uma frequência maior do que a esperada, determinaria a interrupção do estudo.

Apesar deste estudo ser a descrição de uma série de pacientes, tratados por uma intervenção terapêutica, que não foi escolhida aleatoriamente, em relação a um grupo controle (estudo "randomizado"), foram feitas algumas comparações entre os dados clínicos obtidos nesta população e os dados de pacientes submetidos à transplante de medula óssea convencional, contemporaneamente.

O nosso serviço realiza transplantes de medula óssea desde setembro de 1993 e os transplantes alogênicos de CTP desde março de 1994. Esta análise, compreende todos os casos transplantados para tratamento de doenças hematológicas malignas, até maio de 1995. Três pacientes foram excluídos da análise: uma paciente (UPN 26), morreu no dia +8 pós-

transplante e portanto não era avaliável pelos parâmetros estudados; um paciente (UPN 38); recebeu o transplante autoplástico e um paciente (UPN 39), recebeu CTP singênicas. Todos estes casos excluídos, receberam transplantes com as CTP. Nenhuma exclusão foi feita na análise dos casos que receberam o transplante de medula óssea. O serviço começou a realizar os transplantes com CTP seis meses após iniciar os transplantes de medula óssea. Nossa preocupação era a possibilidade de que os primeiros pacientes tivessem apresentado evolução diferente por isso nós comparamos os dados obtidos nos transplantes de medula óssea realizados antes e após março de 1994 e não verificamos nenhuma diferença entre estes dois grupos.

Esta estratégia de análise permitiu que fossem comparados os dados de dezessete (17) pacientes que receberam transplantes com CTP e vinte e um (21) pacientes tratados com o transplante convencional de medula óssea. Todos os pacientes foram tratados pela mesma equipe, contemporaneamente, utilizando os mesmos recursos de tratamento de suporte e hemoterápicos, os mesmos protocolos para condicionamento, e a mesma profilaxia de DECH, dentre outros.

Os parâmetros estudados foram: a recuperação medular, o tempo de hospitalização pós-transplante, e a incidência e a gravidade da DECH, as necessidades transfusionais, o uso de antimicrobianos e a morbidade imediata do procedimento. Esta avaliação foi realizada indiretamente, tendo como parâmetros o número de dias de nutrição parenteral e os níveis máximos de creatinina e bilirrubinas séricas.

Os pacientes com a-DECH em formas avançadas da doença (graus III e IV) tem uma evolução clínica pior do que aqueles que não a apresentam ou a tem em pequena intensidade (grau 0 a II). Os dados relativos a DECH aguda foram, então, agrupados em dois conjuntos, graus 0 a II e graus III e IV para análise, pois nestes subgrupos os pacientes têm semelhança entre si no que diz respeito a evolução e prognósticos.

Os números mínimos de granulócitos e de plaquetas utilizados neste trabalho, como referência para “pega” da medula óssea foram, respectivamente, $0,5 \times 10^9/L$ e $35 \times 10^9/L$. O número mínimo de granulócitos foi determinado em função de ser o parâmetro em que se baseia clinicamente para considerar o paciente com pouco risco de infecção e o de

plaquetas em função, daquele número, ser pouco influenciado por transfusões profiláticas ou pelo uso de ganciclovir pós-transplante.

As análises das variáveis numéricas foram realizadas através dos testes: “exato de Fisher” e de “Mann-Whitney”. As curvas de sobrevida, foram obtidas pelo método de “Kaplan e Meier” (KAPLAN *et al*, 1958). As análises estatísticas foram feitas em computador pessoal utilizando programas estatísticos disponíveis no mercado [MINITAB, 1991; Minitab Inc, 3081 Enterprise Drive, State College PA 16801-3008, USA; EPI INFO, Version 6, Centers for disease control and prevention (CDC)-World Health Organization, Geneva, Switzerland; KMSURV Kaplan-Meier product-limit estimates of S(t), Nelson Campos-Filho, Eduardo L. Franco. Ludwig Institute for Cancer Research, SP Branch EB unit, São Paulo, Brasil].

*"Serras que se vão saindo, para destapar outras
serras. Tem todas as coisas. Voando, se aprende;
mas o que se aprende mais é só a fazer
outras maiores perguntas".*

*Guimarães Rosa
"Grande Sertão: Veredas"*

4. Resultados

Os resultados e análise dos dados obtidos nos doadores e receptores de dezessete (17) transplantes com CTP alogênicas e nos vinte e um (21) com medula óssea são apresentados abaixo:

4.1. EFEITOS DA MOBILIZAÇÃO E COLETA DE CTP EM DOADORES NORMAIS

Todos os doadores, receberam a dose proposta de rhG-CSF de 10 µg/kg, através de injeção subcutânea, diariamente, pela manhã, durante 5 dias consecutivos. Foram submetidos ainda a uma sessão de aférese, na tarde do quinto dia de administração da droga.

Dois doadores foram submetidos a duas sessões de aférese: um (receptor UPN 16) devido a uma interpretação errada da contagem de células após a primeira sessão e outro (receptor UPN 52) devido à impossibilidade de se obter o número mínimo de células proposto para o transplante ($3,5 \text{ CMNT} \times 10^8/\text{kg}$ de peso), somente com uma sessão de aférese.

A tolerância à medicação foi muito boa e, não se observou efeito colateral imediato além de cefaléia, de intensidade leve a moderada, em todos os doadores e de dores ósseas, de pequena intensidade, em todos os casos. Estes sintomas não foram intensos o suficiente para provocar a suspensão da medicação. A evolução foi favorável com a redução pronta dos sintomas com o uso de acetaminofên (500 mg até de 6/6h), usado a critério do doador, ou de acetaminofên associado à codeína (500 mg + 30 mg), por via oral, prescrito por médico do serviço, até de 6/6 h.

O exame físico sumário destes doadores não mostrou, em qualquer ocasião, alterações significativas que pudessem sinalizar a presença de problemas provocados pela mobilização de CTP pelo rhG-CSF.

A tabela 6 apresentado a seguir, resume os dados hematológicos dos doadores no dia da aférese, antes e após o procedimento, bem como o número de células coletadas.

Tabela 6: Características dos doadores e da coleta de CTP

| UPN | Sexo | Idade | Volume Processado + ACD (l) | Ht/Leucócitos/Plaquetas (x 10 ⁹ /l) pré-aférese | Ht/Leucócitos/Plaquetas (x 10 ⁹ /l) pós-aférese | Dose de Células (CMNT) (x 10 ⁹ /kg receptor) |
|-----|------|-------|-----------------------------|--|--|---|
| 16 | M | 34 | 29,9* | 38,5/23,2/221,0 | 37,6/17,1/37,0 | 6,3 |
| 20 | M | 30 | 20,0 | 37,8/45,5/189,0 | 38,3/32,9/32,0 | 4,9 |
| 22 | F | 40 | 16,3 | 38,9/40,7/299,0 | 34,9/26,2/64,0 | 5,6 |
| 28 | M | 48 | 20,0 | 49,5/32,9/212,0 | 49,8/22,1/61,0 | 5,1 |
| 31 | M | 43 | 13,4 | 39,7/60,4/187,0 | 39,8/62,7/89,0 | 6,9 |
| 33 | F | 18 | 20,0 | 36,0/46,3/301,0 | 37,7/51,1/107,0 | 4,5 |
| 35 | M | 21 | 20,0 | 42,2/25,6/114,0 | 41,9/17,7/48,0 | 5,1 |
| 37 | F | 49 | 11,9 | 40,1/32,6/187,0 | 41,3/28,7/101,0 | 1,8 |
| 41 | M | 33 | 20,0 | 46,2/44,0/241,0 | 46,0/60,5/73,0 | 4,2 |
| 42 | M | 34 | 18,0 | 41,3/48,5/241,0 | 42,0/47,1/107,0 | 4,0 |
| 43 | M | 18 | 15,0 | 47,6/43,9/278,0 | 45,3/37,8/113,0 | 3,7 |
| 44 | M | 38 | 20,0 | 41,1/39,8/193,0 | 41,8/40,4/86,0 | 13,8 |
| 47 | F | 17 | 13,1 | 40,6/31,8/228,0 | 38,1/32,8/83,0 | 4,0 |
| 50 | F | 20 | 16,3 | 38,7/58,3/355,0 | 39,5/67,7/112,0 | 3,8 |
| 52 | F | 32 | 28,5* | 37,3/28,1/149,0 | 34,2/17,7/58,0 | 4,1 |
| 53 | F | 14 | 12,0 | 42,7/62,5/192,0 | 40,9/59,3/72,0 | 3,0 |
| 56 | F | 35 | 14,5 | 34,8/34,2/253,0 | 35,4/35,8/100,0 | 2,7 |

* Duas coletas

Os dados na tabela mostram que os leucócitos apresentam sempre uma elevação em relação aos valores normais e, em alguns doadores chegaram a níveis que mimetizaram uma reação leucemóide. Quanto ao número de plaquetas e de hemácias, não se observaram alterações significativas.

O procedimento de aférese foi muito bem tolerado pelos doadores. As poucas queixas incluíam o desconforto posicional e as parestesias, atribuíveis à hipocalcemia provocada pelo anticoagulante utilizado (ACD). Estes sintomas que eram prontamente resolvidas através da administração de gluconato de cálcio. Uma doadora, apresentava hipertensão arterial, antes de iniciar o procedimento, e necessitou receber medicação hipotensora para o controle dos seus níveis tensionais. O procedimento transcorreu sem anormalidades, nesta doadora, bem como em todos os outros.

4.2. RECUPERAÇÃO HEMATOPOETICA APÓS TRANSPLANTE COM CTP ALOGÊNICAS

Todos os pacientes apresentaram recuperação medular completa e que se manteve durante todo o período de observação, com um seguimento máximo de 412 dias. Um paciente, UPN 20, apresentou supressão medular possivelmente por infecção sistêmica por CMV, e somente ficou independente de transfusões de plaquetas, após o dia +52. Após o tratamento com ganciclovir, o número de plaquetas retornou à normalidade.

A tabela 7 mostra os dados relativos à recuperação medular dos pacientes transplantados com CTP alogênicas.

Tabela 7: Parâmetros clínicos dos pacientes que receberam CTP

| UPN | Granulócitos > $0,5 \times 10^9/l$ (dias) | Plaquetas > $35 \times 10^9/l$ (dias) | Alta (+) | Bilirrubina Max mg/dL | Creatinina Max mg/dL | Dias de NP | Transfusão Plaquetas* | Transfusão de Hemácias | Dias de antibióticos | Dias de Ante B | Seguimento |
|-------------------|---|---|-----------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------|---------------------|
| 16 | 14 | 13 | 25 | 1,3 | 1,32 | 23 | 9 | 11 | 22 | 0 | 412 |
| 20 | 10 | 88 | 18 | 1,9 | 1,27 | 4 | 5 | 17 | 12 | 0 | 370 |
| 22 | 14 | 13 | 19 | 0,8 | 1,20 | 12 | 4 | 11 | 10 | 0 | 350 |
| 28 | 15 | 12 | 36 | 3,8 | 1,78 | 32 | 14 | 14 | 28 | 20 | 81 |
| 31 | 17 | 20 | 27 | 1,2 | 0,94 | 11 | 23 | 23 | 27 | 5 | 258 |
| 33 | 10 | 9 | 25 | 0,7 | 1,07 | 13 | 3 | 2 | 18 | 12 | 59 |
| 35 | 15 | 21 | 22 | 0,7 | 1,59 | 8 | 2 | 9 | 20 | 0 | 216 |
| 37 | 18 | 21 | 27 | 4,1 | 1,05 | 11 | 16 | 30 | 14 | 0 | 209 |
| 41 | 14 | 12 | 18 | 2,9 | 1,79 | 0 | 5 | 10 | 10 | 0 | 174 |
| 42 | 14 | 15 | 15 | 23,9 | 2,46 | 12 | 11 | 11 | 14 | 7 | 15 |
| 43 | 18 | 20 | 23 | 0,8 | 1,22 | 7 | 03 | 02 | 13 | 0 | 160 |
| 44 | 20 | 28 | 36 | 3,5 | 3,39 | 30 | 15 | 21 | 24 | 8 | 146 |
| 47 | 11 | 10 | 18 | 0,8 | 1,58 | 0 | 2 | 1 | 11 | 0 | 118 |
| 50 | 14 | 14 | 42 | 0,3 | 1,48 | 37 | 6 | 14 | 29 | 10 | 76 |
| 52 | 15 | 13 | 23 | 1,6 | 1,25 | 3 | 9 | 6 | 19 | 0 | 69 |
| 53 | 13 | 14 | 18 | 5,5 | 0,79 | 0 | 11 | 7 | 17 | 0 | 48 |
| 56 | 12 | 15 | 18 | 1,6 | 1,15 | 10 | 4 | 2 | 10 | 0 | 20 |
| M=14 (10 - 20) | M=14 (9 - 38) | M=23 (15 - 42) | M=1,6 (0,3 - 23,9) | M=1,27 (0,79 - 3,39) | M=11 (0 - 37) | M=6 (2 - 23) | M=11 (1 - 30) | M=17 (10 - 29) | M=0 (0 - 20) | M=0 (0 - 20) | M=143 (412 - 15) |

* 1 unidade colhida por aférese ou sete unidades unitárias de doadores variados

4.3. DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO AGUDA E CRÔNICA, APÓS TRANSPLANTE COM CTP ALOGÊNICAS

Os dados relativos a incidência e a gravidade da DECH aguda, nos pacientes que recebem CTP alogênicas são resumidos na tabela 8.

Tabela 8: Grau de a-DECH em transplantes com CTP e TMO

| | | Grau | | | | |
|------------|----|------|---|----|-----|----|
| | | 0 | I | II | III | IV |
| CTP | 17 | 6 | 2 | 5 | 2 | 2 |
| MO | 21 | 7 | 4 | 7 | 1 | 2 |

Onze (11) pacientes apresentaram DECH aguda: dois, com grau I; cinco, com grau II; dois, com grau III e dois, com grau IV. Todos receberam a profilaxia proposta, isto é, CSA combinada com o MTX e “resgate” com o ácido folínico. Apenas um paciente (UPN 33), recebeu a CSA e a Metilprednisolona, devido à disfunção hepática e renal na ocasião do transplante.

Os pacientes que apresentaram a DECH de grau igual ou superior a II foram tratados com a metilprednisolona, inicialmente. Naqueles casos em que a evolução foi desfavorável os pacientes receberam a globulina anti-timocítica (ATG) e/ou talidomida.

Quanto à ocorrência e a gravidade da DECH crônica (c-DECH), e com um seguimento mediano de 111 dias nesta série de pacientes, somente dez foram submetidos aos exames para detecção e quantificação de DECH crônica, realizados em torno do dia +100. Nos pacientes estudados, apenas três apresentaram a c-DECH, todos com forma limitada, progressiva e não associada à trombocitopenia. Estes pacientes, foram tratados com a CSA e a prednisona. Até o fechamento desta análise, os outros pacientes ainda não eram avaliáveis para c-DECH

4.4. MORBIDADE INESPECÍFICA DOS TRANSPLANTES COM CTP ALOGÊNICAS

Os pacientes que receberam as CTP, como fonte de células-tronco hematopoiéticas, apresentaram evolução clínica, durante o processo de transplante, semelhante à dos pacientes que receberam a medula óssea. Com a finalidade de tentar detectar as diferenças entre estes dois grupos de pacientes, foi feita uma análise comparativa de seus parâmetros de função renal, hepática e da necessidade de nutrição parenteral. Estes dados estão resumidos na tabela 8 mostrada anteriormente.

4.5. SOBREVIDA GLOBAL APÓS TRANSPLANTE COM CTP ALOGÊNICAS

A análise da sobrevida global (SG), pelo método de Kaplan e Meier, dos pacientes que receberam CTP as alogênicas ou a medula óssea é mostrada no gráfico 1, na página seguinte. A sobrevida global atuarial é de aproximadamente 75 - 80% para os pacientes que receberam CTP e não parece ser diferente da sobrevida global dos pacientes que receberam medula óssea. Não é possível fazer uma comparação entre as duas curvas de sobrevida por limitação metodológica do estudo.

No grupo de pacientes submetidos a transplante com as CTP alogênicas, quatro (4) morreram até a data desta análise. A causa da morte de todos eles, foi relacionada à DECH aguda, diretamente, ou por infecções associadas à imunossupressão, provocada pela própria DECH e pelo tratamento instituído. As causas de óbito no grupo de pacientes que recebem medula óssea foram também na sua maioria relacionada a DECH ou à recaída da doença primária.

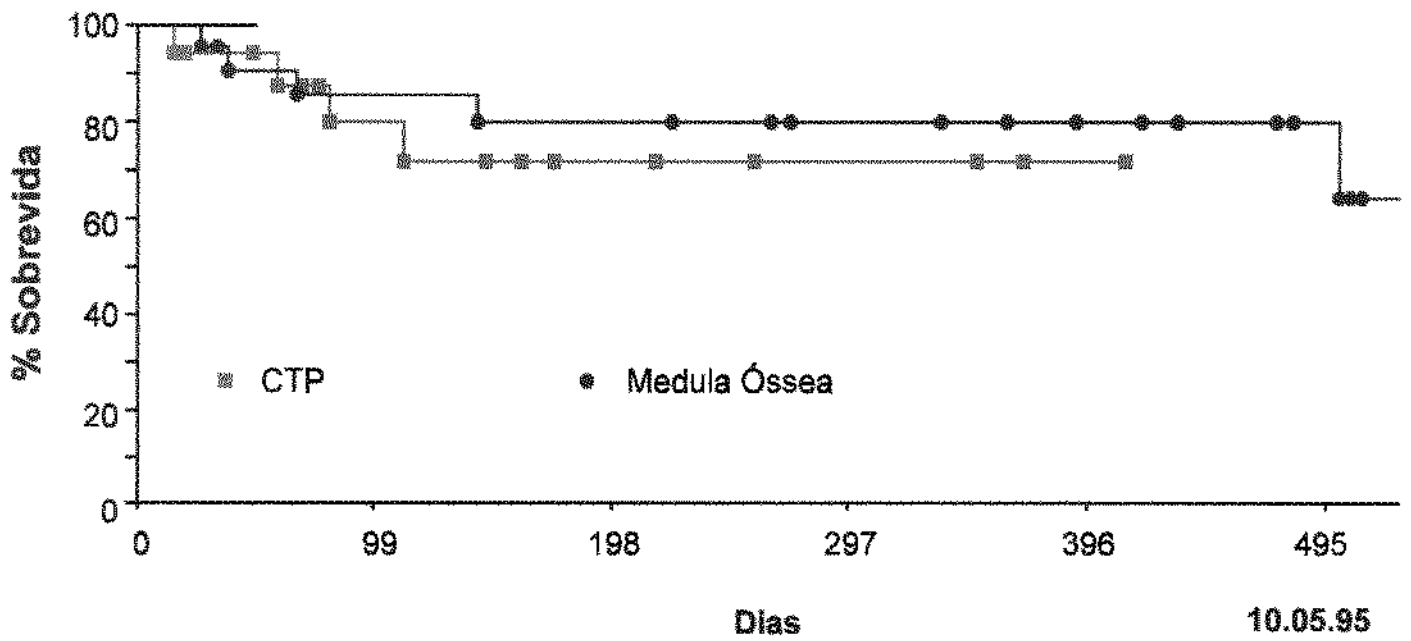


Gráfico 1. Sobrevida global dos pacientes

4.6. RESULTADOS GERAIS DOS TRANSPLANTES DE MEDULA ÓSSEA UTILIZADOS PARA COMPARAÇÕES COM OS TRANSPLANTES DE CTP ALOGÊNICAS

Os resultados obtidos nos transplantes de medula óssea, que neste trabalho são comparados aos resultados, dos transplantes de CTP alogênicas, estão resumidos na tabela 9, mostrada na página seguinte.

Tabela 9: Parâmetros clínicos dos pacientes que receberam MO

| UPA | Granulócitos > 0,5 x 10 ⁹ /l (dias) | Plaquetas > 35 x 10 ⁹ /l (dias) | Alta (*) | Bilirrubina Max mg/dl | Creatinina Max mg/dl | Dias de NP | Transfusão de Plaquetas* | Transfusão de Hemácias | Dias de antibióticos | Dias de Antio B | Seguimento |
|-----|--|--|---------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------|-----------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------|-----------------------|
| 01 | 18 | 42 | 31 | 1,7 | 1,99 | 18 | 18 | 9 | 26 | 14 | 501 |
| 02 | 23 | 34 | 28 | 4,9 | 1,28 | 23 | 9 | 7 | 21 | 0 | 593 |
| 04 | 19 | 14 | 21 | 0,9 | 2,02 | 6 | 8 | 4 | 13 | 0 | 559 |
| 05 | 26 | 14 | 27 | 4,8 | 1,84 | 28 | 14 | 13 | 36 | 25 | 27 |
| 06 | 27 | 25 | 38 | 32,4 | 2,44 | 21 | 19 | 9 | 26 | 19 | 38 |
| 07 | 20 | 20 | 20 | 5,07 | 1,48 | 16 | 9 | 15 | 22 | 0 | 142 |
| 08 | 28 | 23 | 35 | 1,0 | 1,99 | 10 | 8 | 9 | 23 | 0 | 510 |
| 09 | 10 | 29 | 38 | 5,4 | 2,22 | 20 | 39 | 25 | 33 | 14 | 504 |
| 10 | 14 | 22 | 27 | 6,8 | 3,01 | 24 | 20 | 12 | 31 | 12 | 482 |
| 11 | 30 | 28 | 33 | 0,8 | 3,10 | 20 | 5 | 9 | 25 | 15 | 475 |
| 14 | 22 | 22 | 36 | 1,0 | 1,52 | 8 | 6 | 6 | 28 | 2 | 433 |
| 15 | 18 | 20 | 21 | 1,3 | 0,95 | 18 | 4 | 7 | 13 | 0 | 419 |
| 18 | 20 | 21 | 28 | 2,1 | 1,15 | 12 | 16 | 9 | 26 | 13 | 391 |
| 21 | 17 | 12 | 57 | 2,0 | 1,72 | 23 | 7 | 8 | 17 | 11 | 363 |
| 23 | 12 | 17 | 28 | 2,1 | 1,24 | 12 | 10 | 7 | 19 | 13 | 335 |
| 29 | 29 | 126 | 37 | 3,5 | 2,09 | 32 | 21 | 19 | 27 | 20 | 272 |
| 30 | 27 | 40 | 29 | 1,4 | 0,60 | 13 | 12 | 5 | 32 | 0 | 265 |
| 32 | 22 | 35 | 35 | 10,6 | 2,24 | 33 | 25 | 15 | 28 | 0 | 67 |
| 34 | 17 | 17 | 21 | 1,8 | 1,35 | 3 | 6 | 7 | 16 | 0 | 223 |
| 51 | 13 | 13 | 18 | 5,5 | 0,59 | 16 | 6 | 11 | 15 | 0 | 69 |
| 55 | 21 | 21 | 22 | 1,0 | 1,13 | 14 | 4 | 4 | 10 | 0 | 34 |
| | M=20,0 (10 - 30) | M=22,0 (12 - 120) | M=26,0 (20 - 57) | M=2,1 (0,8 - 32,4) | M=1,72 (0,59 - 3,10) | M=18,0 (3 - 33) | M=10,0 (4 - 39) | M=9,0 (4 - 25) | M=25,5 (13 - 36) | M=10,0 (0 - 25) | M=535,0 (27 - 583) |

4.7. ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS PARÂMETROS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DOS PACIENTES QUE RECEBERAM TRANSPLANTES COM CTP E MEDULA ÓSSEA

A tabela 10 mostra os resultados desta análise e salienta os parâmetros que apresentaram diferenças significativas entre estas duas coortes de pacientes.

Os parâmetros que demonstraram diferença significativa no ponto de vista estatístico foram: velocidade de recuperação de granulócitos ($p = 0,0009$), de plaquetas ($p = 0,0069$), tempo de hospitalização pós-transplante ($p = 0,0257$), número de dias sem antibioticoterapia ($p = 0,0119$) e número de transfusão de plaquetas ($p = 0,0399$). Os outros parâmetros não apresentaram diferenças significativas à nível de 5% de “significância”.

Tabela 10. Comparação dos parâmetros clínico-laboratoriais dos pacientes

| Sexo | Idade | Granulócitos | Plaquetas | Dose de Células | Dia da Alta | a-DECH | Creatinina Max (mg/dL) | Bilirrubina Max (mg/dL) | Dias de Antibióticos | Dias de Anjo B NP | Dias de transfusão de hemácias | Número de transfusões de plaquetas |
|------|-----------------|-------------------|--------------------|---------------------|-----------------|---------------------|------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| CIP | M=12 (16-52) | M=14 (10-20) | M=14 (9-38) | M=4,7 (1,8-6,9) | M=23 (15-42) | 0-II=13 | M=1,27 (0,79-3,39) | M=1,6 (0,3-23,9) | M=17 (10-29) | M=0 (0-20) | M=11 (1-30) | M=6 (2-23) |
| MO | M=9 (5-50) | M=20,0 (10-30) | M=21,0 (12-120) | M=3,25 (1,2-5,8) | M=28 (20-57) | 0-II=18 III-IV=3 | M=1,72 (0,59-3,10) | M=2,1 (0,8-32,4) | M=25,5 (13-36) | M=10 (0-25) | M=9 (4-25) | M=10 (4-39) |
| P* | NC | 0,9009 | 0,0049 | NC | 0,0257 | 0,6773 | 0,1953 | 0,454 | 0,0119 | 0,1002 | 0,7833 | 0,6399 |

* Valores de p obtidos através dos testes de Mann-Whitney para todos os parâmetros exceto as taxas a-DECH que foram comparadas pelo teste exato de Fischer.

M: Mediana; () Variação; NC: Não comparável

*"Mas para mim, o que vale é o que está por baixo
ou por cima - o que parece longe e está perto, ou o que
está perto parece longe.
Conto ao senhor é o que eu sei e o senhor não sabe;
mas principal quero contar é o que não sei se sei,
e que pode ser que o senhor saiba"*

*Guimarães Rosa
"Grande Sertão: Veredas"*

5. Discussão

Os transplantes autoplásticos, utilizando as CTP, têm sido realizados com sucesso desde meados da década de 80 (MOLINEUX *et al.*, 1991). A experiência com este tipo de transplante tem sido tão satisfatória que se observa uma tendência à substituição da medula óssea por CTP, em quase todos os serviços que realizam este tipo de procedimento (BENSINGER *et al.*, 1993). A recuperação hematopoética, produzida por CTP autoplásticas, tem se mostrado completa e duradoura. Mas, até o momento, não se dispõe de dados, baseados em estudos utilizando genes marcados. Portanto, esta questão ainda apresenta dúvidas a serem cientificamente esclarecidas. No entanto, como nos transplantes autoplásticos, as doses de quimioterapia e/ou radioterapia utilizadas são com frequência supra-letais para a medula óssea, é razoável a suposição de que, a recuperação medular, se deva mesmo às células-tronco infundidas.

Nos transplantes autoplásticos, a recuperação medular tem sido sistematicamente mais rápida quando se usa as CTP. Isto tem proporcionado um menor tempo de internação, uma menor utilização de antibióticos e de transfusões e a possibilidade da realização destes transplantes a nível ambulatorial (BUCKNER CD, MASSUMOTO C, comunicação pessoal).

Os transplantes alogênicos, com as CTP, serão muito importantes, se pudermos reproduzir os mesmos resultados dos transplantes autoplásticos, isto é, uma recuperação mais rápida do número de plaquetas e leucócitos. Se confirmado, este fato levaria a redução do número de transfusões, do uso de antimicrobianos, do período de susceptibilidade aumentada a infecções e hemorragias e de dias de internação hospitalar. Isto possibilita a redução do custo do procedimento e uma melhor utilização dos recursos disponíveis.

Apesar do grande sucesso dos transplantes com CTP autoplásticas, a sua utilização em transplantes alogênicos foi retardada, por uma série de motivos. Um deles é necessidade de mobilização destas células, para o sangue periférico, que demanda o uso de quimioterapia em doses elevadas e/ou a utilização de fatores de crescimento hematopoéticos. O uso de quimioterápicos antiláblicos é, obviamente, condenável em doadores sadios. Os fatores de crescimento, apesar de terem sido introduzidos em estudos clínicos em 1986, somente nestes últimos anos se tornaram amplamente disponíveis e, agora,

é que se acumulam informações acerca dos seus efeitos e da segurança de sua utilização (LANE *et al.*, 1995; BACIGALUPO *et al.*, 1995).

Dreger (1991), realizou o primeiro transplante bem sucedido com CTP alogênicas para tratamento de um paciente que mostrou “falha de pega”, após duas infusões de medula óssea. O primeiro transplante que utilizou, primariamente, as CTP alogênicas mobilizadas por rhG-CSF foi relatado por Russel (1993). A decisão de usar as CTP foi baseada no fato de o doador ser portador de grande obesidade, o que aumentava os riscos de anestesia geral.

Estes dois relatos de transplantes com as CTP alogênicas e a experiência, também bem sucedida, com o uso de CTP singênicas (BENSINGER *et al.*, 1994), levaram a uma rápida expansão do interesse pelo uso desta modalidade de transplantes. Vários grupos veem desenvolvendo pesquisas nesta área, inclusive o nosso (AZEVEDO *et al.*, 1994). Bensinger (1995), realizou uma revisão do estado atual dos transplantes com CTP alogênicas, incluindo a nossa casuística, descrevendo que até o momento pouco menos de 100 transplantes deste tipo foram realizados. Tal fato faz com que os casos tratados neste trabalho compreendem uma parcela significativa da experiência, até então acumulada.

Os poucos relatos de transplante de CTP disponíveis até o momento mostram que este procedimento tem reproduzido a experiência dos transplantes autoplásticos. Há uma recuperação medular mais rápida do que a observada com medula óssea. Ao contrário da expectativa generalizada, a incidência e gravidade da DECH não são proibitivas, apesar de infundirmos um número muito maior de linfócitos T, nestes casos (BENSINGER *et al.*, 1995). Körbling (1995) e Schmitz (1995), também relataram recentemente a realização de nove (9) e oito (8) transplantes alogênicos com CTP e os resultados destes pesquisadores mostram que as incidências e a gravidade da DECH aguda nestes pacientes foram pequenas; a recuperação medular relatada também foi adequada e rápida é o digno de nota que os pacientes de Körbling, além de usarem rhG-CSF pós transplante, não receberam MTX como profilaxia para DECH.

Neste trabalho, analisamos alguns aspectos relacionados aos transplantes com CTP alogênicas, mobilizadas por rhG-CSF, com a intenção de avaliar os pontos levantados mais relevantes de nossos objetivos.

A restauração da hematopoese em receptores alogênicos, após terapia mieloablativa ficou claramente demonstrada. Todos os pacientes recuperaram prontamente a função medular e, esta, tem se mantido por todo o período de observação que, em nossa casuística, variou de 20 a 412 dias.

A recuperação medular, nos pacientes transplantados com CTP alogênicas, foi mais rápida do que a dos pacientes que receberam medula óssea. Estas diferenças foram estatisticamente significativas, em relação ao tempo para atingir mais de $0,5 \times 10^9/L$ granulócitos/ mm^3 ($p = 0,0009$) e mais de $35 \times 10^9/L$ plaquetas/ mm^3 ($p = 0,0069$). Estas diferenças certamente contribuíram para que estes pacientes recebessem menos transfusões de plaquetas ($p= 0.0399$), menos antibióticos ($p=0.0119$), permanecessem menos dias em risco aumentado para infecções e hemorragias e pudessem receber alta do hospital, alguns dias antes do que os transplantados com medula óssea ($p=0.0257$). Não se observaram diferenças quanto às necessidades de transfusões de hemácias ($p= 0.6919$). Provavelmente, este fato se deve a uma política transfusional agressiva, mantendo os pacientes sempre com hemoglobina acima de 10 g/L. Isto pode produzir uma inibição na produção de células vermelhas pois, a anemia, que é o principal estímulo para a eritropoiese, fica parcialmente corrigida pelas transfusões.

A recuperação mais rápida do número de leucócitos permitiu uma menor utilização de antibióticos ($P= 0.0119$). Não foi possível detectar qualquer benefício clínico decorrente deste fato, já que, não observamos óbitos, por infecção, no período de aplasia medular, induzido pelo condicionamento, nos dois grupos de pacientes.

No que concerne à DECH aguda, os dados mostram que esta ocorreu em um número significativo de pacientes e em graus variáveis, às vezes na sua forma grave. Não foi possível detectar diferenças significativas entre os dois grupos de pacientes analisados ($p = 0,6775$).

Nossa casuística, parece confirmar os achados de outros grupos e não mostra ocorrência intolerável de DECH aguda, após transplantes com CTP alogênicas. No entanto, a DECH se constituiu na maior causa de morbidade e mortalidade associadas aos transplantes alogênicos e deve ser motivo de mais pesquisas e esforços, no sentido de melhorar sua prevenção e tratamento. Todos os casos de óbito, em nossa casuística, foram

diretamente relacionados à DECH aguda direta ou, indiretamente, por infecções relacionadas à imunossupressão, que a ela se associa.

Os nossos dados são preliminares para analisar a DECH em sua forma crônica. Dez (10) dos nossos pacientes, já se submeteram aos exames de "screening" para c-DECH. Estes exames são realizados a partir do dia +100 e, até o momento, somente três (3) pacientes apresentaram alterações diagnósticas de DECH crônica.

Será preciso um seguimento de pelo menos 6 a 9 meses, para se obter os dados mais definitivos a este respeito. Esta forma de reação, pode aparecer tardiamente, principalmente quando se utiliza imunossupressão prolongada após o transplante. Este fato é o que ocorre mais frequentemente em nosso serviço.

Todos os pacientes, recuperaram a medula óssea prontamente, e a mantiveram durante todo o período de observação. Nenhum episódio de rejeição ou de "falha de pega" foi observado, até agora. É digno de nota o fato de os pacientes tolerarem bem a administração de ganciclovir, iniciada tão logo apresentem mais de $0,5 \times 10^9/L$ de granulócitos e $35 \times 10^9/L$ de plaquetas.

Em nossa casuística, o condicionamento com bussulfano e ciclofosfamida, associados ou não ao etoposídeo (Bu/Cy2 ou Bu/Cy/VP-16), tem se mostrado imunossupressor, o bastante para permitir a "pega" das CTP alogênicas, já que nenhum caso de "falha de pega" foi observado.

O seguimento dos pacientes, ainda é curto para se analisar o efeito antileucêmico dos transplantes com as CTP. As recidivas podem ocorrer tardiamente, principalmente nesta população estudada, pois compreende um grande número de pacientes com doença avançada e, alguns, até refratários à terapêutica convencional.

A morbidade geral associada ao transplante, parece ser semelhante entre os dois grupos de pacientes. Para tal análise, utilizamos alguns parâmetros indiretos tais como os níveis máximos de creatinina ($p = 0,1865$); de bilirrubinas ($p = 0,4541$) e o número de dias em nutrição parenteral ($p = 0,0859$). Em nosso estudo, não se verificaram diferenças significativas entre os dois grupos com relação a estes dados. Este fato, pode ser observado nos valores de p obtidos pela comparação das medianas daqueles parâmetros.

Com relação aos doadores, este estudo mostrou que a tolerância ao rhG-CSF foi bastante satisfatória e que, pelo menos a curto prazo, não se observaram problemas significativos devido ao seu uso. No entanto, é necessário o seguimento, a longo prazo, destes doadores para se assegurar de que o uso desta substância, em doses farmacológicas, não provocará nenhum efeito deletério. Até hoje, não se evidenciou nenhum problema médico tardio nos pacientes que receberam estes fatores de crescimento para estimular a recuperação medular após quimioterapia, seguido ou não de transplante (GOLDMAN *et al.*, 1995).

A dose de rhG-CSF, foi suficiente para a mobilização do número estipulado de CMNT, para o transplante. Esta é uma área que ainda exige maiores estudos. Talvez possamos obter o mesmo efeito com doses menores de rhG-CSF, isolado ou combinado com outros fatores de crescimento, buscando menores efeitos colaterais, maior economia e, talvez maior eficiência.

A quantidade de células necessárias para a realização de um transplante com CTP alogênicas, não está claramente definida. Alguns autores sugerem, que a contagem do número total de células mononucleadas pode ser suficiente para determinar o tamanho do inóculo de células necessárias, para o transplante (OLIVIERI *et al.*, 1994), entretanto a tendência atual, na medida em que se difunde a utilização da citometria de fluxo, é a pela utilização do número de células CD34+.

Nós acreditamos ser possível basear-se somente na contagem de CMNT, mas é necessário cautela, pois, é possível que um determinado doador possa “falhar”, no sentido de mobilizar as células-tronco em número suficiente para garantir uma recuperação medular adequada. A nossa experiência, deriva deste estudo e de alguns transplantes autoplásticos realizados (dados não publicados). Tais dados têm mostrado, que é razoável a utilização do número de CMNT para se estabelecer o número de células a serem infundidas. Um fato interessante, é que a realização de transplantes de medula óssea tem ocorrido, por mais de três décadas, baseada somente no número de células nucleadas totais do aspirado medular, com o objetivo de definir a quantidade de medula a ser infundida. Este parâmetro, sempre se mostrou adequado para esta finalidade.

A realização de uma única sessão de aférese, de grande volume, mostrou ser suficiente para a obtenção do número proposto de células mononucleadas para a realização do transplante, sendo bem tolerada por todos os doadores. Esta é uma definição importante, pois, permite que o procedimento seja realizado somente uma vez. Isto torna a doação mais segura, confortável e talvez mais econômica. Além disso, evita a criopreservação e o descongelamento de células. Também, permite que seja minimizada a infusão de linfócitos T, que "contaminam" o produto a ser infundido. Tal ocorrência pode ter importância na ocorrência da DECH.

Alguns doadores, apresentaram trombocitopenia significativa após o procedimento de aférese. Isto ocorreu devido ao grande volume de sangue processado e, provavelmente, pela pouca seletividade do equipamento utilizado. Este é um motivo de preocupação, e claramente determina a necessidade de melhorar a nossa capacidade de mobilização de células-tronco e de coletar, estas células, mais seletivamente. Todos os nossos doadores, recuperaram prontamente as suas contagens de plaquetas e em nenhuma ocasião, apresentaram sangramentos. Todos os procedimentos de doação transcorreram sem anormalidades e nenhum problema clínico, significativo, foi observado, durante ou após, às sessões de aférese.

As informações obtidas neste estudo, mostram a viabilidade e, mesmo, algumas vantagens das CTP alogênicas em relação ao uso de medula óssea, como recurso para o resgate da hematopoese, de pacientes submetidos a terapia mieloablativa. Se estas vantagens são realmente relevantes, do ponto de vista clínico, incluindo sobrevida, e se resultam em transplantes mais seguros e melhores, ainda não foi possível concluir. Também são necessários dados sobre os aspectos econômicos relacionados aos transplantes de CTP e de medula óssea.

Estes resultados preliminares são encorajadores. À despeito do pequeno número de casos e do curto tempo de seguimento dos mesmos, podemos dizer que os transplantes com CTP alogênicas se constituem em uma modalidade terapêutica aceitável e que deve ser aprimorada, através de outros estudos. No entanto, esta área de investigação ainda requer uma quantidade elevada de informações, que esclareçam muitos dos pontos ainda obscuros, antes que possamos substituir os transplantes medulares por transplantes com CTP, de

modo definitivo, na prática médica. O mais provável na nossa opinião é que no futuro teremos uma definição de alguns sub-grupos de pacientes que se beneficiarão mais ou menos deste procedimento.

"Ah, meu senhor, mas o que eu acho é que o senhor
já sabe mesmo tudo - que lhe fize. Aqui eu
podia pôr ponto, Para tirar o final, para conhecer
o resto que falta, o que lhe basta, que menos mais, é
por atenção no que contei, remexer vivo o que vim
dizendo. Porque não narrei nada à toa: só
apontação principal, ao que crer possa.
Não desperdiço palavras."
e que pode ser que o senhor saiba"

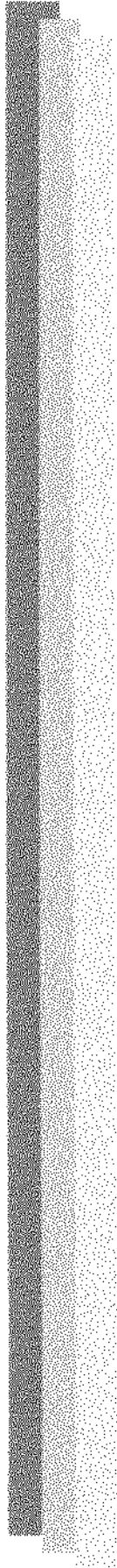
Guimarães Rosa
"Grande Sertão: Veredas"

6. Conclusão

Embora este seja apenas um estudo inicial, não-controlado e não-“randomizado”, foi possível chegar às seguintes conclusões, baseado na análise dos dados obtidos:

- A. Os transplantes com CTP alogênicas são viáveis, sendo estas células capazes de reconstituir a medula óssea, destruída por terapia mieloablativa.
- B. A recuperação do número de plaquetas e de granulócitos, nos transplantes de CTP alogênicas, é mais rápida do que nos transplantes de medula óssea convencionais.
- C. Os pacientes transplantados, com CTP alogênicas, receberam alta hospitalar mais precocemente do que os que receberam medula óssea.
- D. Os pacientes que receberam o transplante com CTP alogênicas, usaram menos antibióticos e receberam menos transfusões de plaquetas, do que os que receberam medula óssea.
- E. A morbidade geral do transplante com CTP alogênicas, avaliada por provas de função renal, função hepática e dias em nutrição parenteral, não foi diferente da morbidade observada no transplante de medula óssea convencional.
- F. A “pega” do enxerto é estável e sólida, permitindo inclusive o uso de drogas mielossupressoras no período pós-transplante, tais como o ganciclovir, o sulfametoxazol-trimetoprim, dentre outros.
- G. O condicionamento utilizado no estudo é imunossupressor, o bastante, para permitir a “pega” da medula óssea, e o enxerto é suficiente para se sobrepor a mecanismos imediatos de rejeição.
- H. A incidência de DECH aguda, não foi maior nos pacientes que receberam CTP, do que naqueles que receberam a medula óssea.
- I. A DECH esteve relacionada sempre à causa de morte dos pacientes transplantados com CTP.

- J.** Não foi possível, ainda, determinar a incidência e gravidade relativas à DECH crônica, devido ao pequeno tempo de seguimento dos casos.
- K.** Não foi possível, ainda, obter conclusões sobre o efeito anti leucêmico dos transplantes com CTP, devido ao pequeno tempo de seguimento dos pacientes e ao seu pequeno número.
- L.** A tolerância dos doadores à administração de rhG-CSF foi boa e não se observaram problemas de maior importância relacionáveis ao uso da droga no período de observação do estudo.
- M.** A dose de rhG-CSF, utilizada no estudo, foi adequada para mobilizar as CTP, e em número suficiente para se assegurar pronta recuperação hematopoética.
- N.** A coleta de CTP alogênicas, em uma única sessão de aférese de “grande volume”, foi bem tolerada e permitiu a coleta do número adequado de células para os transplantes, em quase todos os casos, exceto em uma doadora.
- O.** A determinação do número total de células mononucleadas no produto de aférese foi suficiente para orientar o tamanho do inóculo de células. Neste estudo, os pacientes mostraram “pega” satisfatória da medula óssea quando receberam até 1.8×10^8 CMNT/kg de peso.



7. Summary

Autologous blood stem cell (BSC) transplantation is already a well established medical procedure, which has shown some advantages over the use of bone marrow for the same purpose. A faster engraftment rate is observed in these transplants, consequently shortening the period of marrow aplasia that follows the conditioning phase. Besides, BSC collection by apheresis offers more comfort to the donors, avoiding the need for general anesthesia and marrow aspiration in order to obtain sufficient numbers of stem cells for engraftment.

Despite all these advantages, the use of allogeneic BSC for transplantation did not start until the beginning of the Nineties. The application of the technique had always been hampered by the fear that BSC grafts, which contain a larger amount of immunocompetent T-cells, could result in intolerable increases of graft-*versus*-host disease (GVHD) incidence and severity. Collection of BSC by apheresis requires that these cells first be mobilized to the circulation, a task accomplished initially by the use of antineoplastic cytotoxic drugs. The administration of such agents to healthy donors would be a clearly unacceptable practice, and, only recently, recombinant human hematopoietic growth factors (rhG-CSF) have offered a reasonable alternative for this purpose.

In this study, we retrospectively analyze the results of seventeen allogeneic BSC transplants, comparing them to those obtained in a control group of patients who received conventional allogeneic marrow transplants contemporarily fashion. The objective was to study the engraftment profile of the BSC grafts, as well as the general transplant-associated morbidity. For this purpose, several parameters were assessed and compared between the two groups, including: time to engraftment, transfusion needs, number of days under antimicrobial treatment and parenteral nutrition, maximal serum levels of creatinine and

bilirubin, incidence and severity of acute GVHD, among others. We also analyzed the eventual short-term deleterious effects of rhG-CSF upon donors.

The results have pointed to a comparable incidence and severity of acute GVHD in the two populations, as well as similar transplant-associated morbidity profiles. Indeed, BSC grafts produced significantly faster engraftment and shorter hospital stays. Donor stem cell mobilization by rhG-CSF and their collection by single apheresis sessions have been devoid of significant side-effects or clinical complications in the study period. The numbers of cells collected have always proven sufficient to promote good engraftment, with no documented rejection or any other kind of graft failure.

It seems apparent that the advantages offered by autologous BSC transplants can be shared by their allogeneic counterparts. The results suggest that allogeneic BSC transplantation is a feasible procedure, but one must not forget that this was not a randomized, prospective study, and that our follow-up time was not long enough to permit safe conclusions about the issue. More studies are necessary until we can replace allogeneic BSC transplantation for conventional bone marrow transplants.



8. Referências Bibliográficas

- ANASETTI C, AMOS D, BEATTY PG, *et al.* Effect of HLA compatibility on engraftment of bone marrow transplant in patients with leukemia or lymphoma. *N Engl J Med* 1989; **320**:197-204.
- ANASETTI C, MARTIN PJ, STORB R, HANSEN JA. Engraftment of allogeneic hematopoietic stem cells in patients conditioned only with anti-CD3 monoclonal antibody BC3 plus methylprednisolone. *Blood* 1994; **84** (Supp. 1):249a.(abstr).
- ANDREWS RG, BARTELMEZ SH, KNITTER GH, *et al.* A *c-kit* ligand, recombinant human stem cell factor, mediates reversible expansion of multiple CD34+ colony-forming cell types in blood and marrow baloons. *Blood* 1992; **80**:920-927.
- APPELBAUM FR, HERZIG GP, ZIEGLER JC, *et al.* Successful engraftment of cryopreserved autologous bone marrow in patients with malignant lymphoma. *Blood* 1978; **52**:85-95
- ARSENIEV L, KADAR JG, BERENSON RJ, *et al.* Allogeneic peripheral blood progenitor cell mobilization, collection and immunoselection. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15** (Supp2):S5.(abstr)
- AVERSA F, TABILIO A, TERENCEZI A, *et al.* Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "Three-Loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood* 1994; **11**:3948-3955.
- AZEVEDO WM, ARANHA FJ, GOUVEA JV, VIGORITO AC, MARQUES JFC, EID KAB, AZEVEDO AM, SOUZA CA & COSTA FF. Allogeneic transplantation for hematological malignancies using G-CSF mobilized, non cryopreserved, unmanipulated peripheral blood stem cells. *Blood*, 1994 (10) suppl. 1:703a.
- BACIGALUPO A, MAJOLINO I, VAN LINT MT, *et al.* Transplantation of rh-G-CSF mobilized allogeneic peripheral blood cells from HLA identical sibling donors. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15** (Supp 2):S5. (abstr).

- BENDER JG, UNVERZAGT KL, WALKER DE, *et al.* 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 WI, PRICE TH, DALE DC, *et al.* The effects of daily recombinant human granulocyte colony stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood* 1993; **81**:1883-1888.
- BENSINGER WI, SINGER J, APPELBAUM F *et al.* Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1993, **81**: 3158-3162.
- BENSINGER WI, LONGIN K, APPELBAUM F, *et al.* Peripheral blood stem cells (PCTPs) 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, WEAVER CH, APPELBAUM FR, *et al.* Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1995; **85**:1655-1658.
- BENSINGER WI, CLIFT RA, ANASETTI C, APPELBAUM FA, *et al.* Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Stem Cells*, in press, 1995.
- 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.
- 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.

- BOLGER GB, SULLIVAN KM, STORB R, *et al.* Second marrow infusion for poor graft function after allogeneic marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1986; **1**:21-30.
- BRIDDELL RA, HARTLEY CCA, 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.
- BUCKNER CD, APPELBAUM FR, ROWLEY S *et al.* Syngeneic transplants utilising peripheral blood mononuclear cells collected after recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF). *Exp Haematol* 1993, **21**: 1129.
- BUCKNER CD, PETERSEN FB, BOLONESI BA. Bone marrow in 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, DONTIE B, DIEHL V, NIJHOF W. Differential effects of recombinant human colony stimulating factor (rh-CSF) on stem cells in marrow, spleen and peripheral blood in mice. *Br J Haematol* 1990; **76**:171-179.
- CARBONELL F, CALVO W, FLIEDNER TM, *et al.* Cytogenetic studies in dogs after total body irradiation and allogeneic transfusion with cryopreserved blood mononuclear cells: Observations in long-term chimeras. *Int J Cell Cloning* 1984; **2**:81-88.
- CASPER CB, SEGER RA, BERGER J. Effective stimulation of donors in 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 dimethyl-sulphoxide. *Blood* 1962; **20**:730-734.
- CHAMPLIN R. Bone Marrow Transplantation: Introduction and Overview. In: *Bone Marrow Transplantation*. Champlin R (ed). Kluwer Academic Publishers 1990, pp 1-9.

- CORRINGHAM RET, LANE TA, MASON J, *et al.* The use of isolated CD34+ blood cells alone for allogeneic (allo) transplant. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1995; **14**:76. (abstr)
- DE REVEL T, APPELBAUM FR, STORB R, *et al.* 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.
- DIPERSIO J, MARTIN B, ABOUD C, RYAN D, BERENSON R. Allogeneic TMO using bone marrow and CD34-selected mobilized PCTP; comparison to BM alone and mobilised PCTP alone. *Blood* 1994; **84** (10):91a. (abstr).
- DREGER P, SUTTORP M, HAFERLACH T, LOFFLER M, 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 (letter).
- DREGER P, HAFERLACH T, ECKSTEIN V *et al.* G-CSF-mobilised peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation. Safety, kinetics of mobilisation and composition of the graft. *Br J Haematol* 1994, **87**: 609-613.
- DREGER P, VIEHMANN K, STEINMANN J, *et al.* 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.
- FRIEDRICH W, SCHREINER M, MULLER S, HARTMANN W, WIESNETH M, KUBANEK B. Simultaneous grafting of T cell depleted marrow and blood stem cells from HLA nonidentical family donors. *Bone Marrow Transplantation* 1995; supp **2**:S28.(abstr).
- FRITSCH G, FISCHMEISTER G, HAAS OA, *et al.* Peripheral blood hematopoietic progenitor cells of cytokine-stimulated healthy donors as an alternative for allogeneic transplantation (Letter). *Blood* 1994; **83**:4320-3421.
- GALE RP, HENON P, JUTTNER CA. Blood stem cell transplants come of age. *Bone Marrow Transplant* 1992, **9**: 151-155.

- GERRITSEN WR, O'REILLY RJ. Granulocyte colony-stimulating factor (CSF) but not interleukin-1 (IL-1), and granulocyte-macrophage CSF protect bone marrow progenitor cells from suppression by allosensitized cytotoxic T cells. *Blood* 1994; **84**:906-1912.
- GIANNI AM, SIENA S, BREGNI M *et al.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to harvest circulating haematopoietic stem cells for autotransplantation. *Lancet* 1989, **2**: 580-585.
- GLUCKSBERG. H, STORB R, FEFER A *et al.* 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, HODGAN GS. Evidences for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood* 1962; **19**:702-714.
- GRATHWOHL A, BALDOMERO H, JOHN L, *et al.* Allogeneic G-CSF mobilised peripheral blood stem cell transplants (PCTP) in rabbits. *Bone Marrow Transplantation* 1994; Supp **2**:139. (abstr).
- GURMAN G, KAHVECI G, AKAN H, *et al.* Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation as a second transplant for severe plastic anemia - correspondance. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15**:485-488.
- HUNTER AE, CUTHBERT R, HANLEY J *et al.* Initial clinical experience in the use of peripheral blood stem cells for allogeneic transplantation using sibling and unrelated donors. *Bone Marrow Transplant* 1994, **13** (Suppl 1): 173 a.
- KERNAN NA. T-cell depletion for prevention of graft-versus-disease. In: FORMAN SJ, BLUME KG, THOMAS ED. (eds): *Bone Marrow Transplantation*. Boston, MA: *Blackwell Scientific Publications*, 1994, p 124-135.

- KESSINGER A, SMITH DM, STRANDJORD SE *et al.* Allogeneic transplantation of blood-derived T-cell depleted haemopoietic stem cells after myeloablative treatment in a patient with acute lymphoblastic leukaemia. *Bone Marrow Transplant* 1989, **4**: 643-646.
- KESSINGER A: Utilization of peripheral blood stem cells in auto-transplantation. *Hematol Oncol Clin North Am* 1993, **7**:435.
- KIEM H-P, DAROVSKY B, VON KALLE C, *et al.* Retrovirus-mediated gene transduction into canine peripheral blood repopulating cells. *Blood* 1994; **83**:1467-1473.
- KOLB HJ, MITTERMÜLLER J, CLEMM CH, *et al.* Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood* 1990; **76**:2462-2465.
- KOOK H, KIM HJ, HWANG TJ, SUH JP, CHUNG IJ. The use of allogeneic peripheral blood stem cell (PCTP) boost in the treatment of late graft failure after allogeneic bone marrow transplant (TMO) in a patient with severe aplastic anemia. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1995; **14**:77. (asctr).
- KÖRBLING M, PRZEPIORKA D, HUH YO, *et al.* Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: Potential advantage of blood over marrow allografts. *Blood* 1995; **85**:1659-1665.
- LANE TA, LAW P, MARUYAMA M, *et al.* Harvesting and enrichment of hematopoietic progenitor cells mobilized into the peripheral blood of normal donors by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) or G-CSF; potential role in allogeneic marrow transplantatio. *Blood* 1995; **85**:275-282.
- LAPORTE JP, LESAGE S, DOUAY L, *et al.* Allogeneic transplantation with peripheral blood hematopoietic progenitors mobilized with G-CSF. *Bone Marrow Transplantation* 1994; **84**(10):90a.(abstr).

- LATERVEER L, LINDLEY IJD, HAMILTON MS, WILLEMZE R, FIBBE WE. 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 D, WILLENZE R, FIBBE WE. Rapid mobilization of stem cells in rhesus monkeys after a single I.V. injection of IL-8. *Bone Marrow Transplantation* 1995; suppl. 2:S7.
- LINK H, ARSENIJEV L, BAHRE O, *et al.* Transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells alone or in addition to bone marrow. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15**(Supp 2):S5. (abstr)
- MACQUAKER G, HAYNES AP, LONG SG, HUNTER AE, RUSSELL NH. Study of the release of CD34 cells and colony forming cells in healthy subjects using G-CSF. *Bone Marrow Transplantation* 1995;**15**(SUpp2):S27.(abstr).
- MAJOLINO I, BUSCEMI F, SCIME R, *et al.* G-CSF mobilized PCTP for allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1994; **84**(10):92a.(abstr).
- MAJOLINO I, BUSCEMI F, SCIME R, *et al.* PCTP Mobilization with G-CSF 16 µg/kg and their apheretic collection in normal donors for use in allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15**(Supp 2):S27.(abstr).
- MARTÍNEZ JA, PICÓN I, CARRAL A, DE LA RUBIA J, SANZ GF, SANZ MA. Allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by G-CSF (filgrastim) for a second transplant in a patient with acute myeloid leukemia in relapse. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15**:149-151.
- MATSUNAGA T, SAKAMAKI S, KOHGO Y, HIRAYAMA Y, NITSU Y. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor can mobilise sufficient amounts of peripheral blood stem cells in healthy volunteers for allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993 Feb, **11** (2) 103-108.
- MCCREDIE KB, HERSH EM, FREIREICH EJ. Cells capable of colony formation in the peripheral blood of man. *Science* 1971; **171**:293-294.

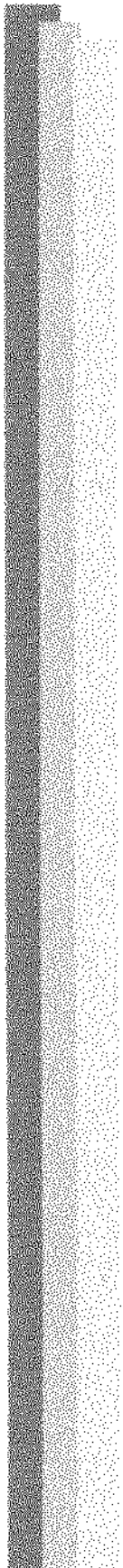
- MOLINA L, CHABANNON C, VIRET F, *et al.* Granulocyte colony-stimulating factor-mobilized allogeneic peripheral blood stem cells for rescue graft failure after allogeneic bone marrow transplantation in two patients with acute myeloblastic leukemia in first complete remission. *Blood* 1995; **85**:1678-1679.
- MOLINEUX G, POJDA Z, HAMPSON I, LORD BJ, DEXTER TM. Transplantation potential of peripheral blood stem cells induced by colony-stimulating factor. *Blood* 1990, **76**: 2153-2158.
- MOLINEUX G, MIGDALSKA A, SZMITOWSKI M, ZSEBO K, DEXTER TM. The effects of 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.
- NASH RA, BURSTEIN SA, STORB R, *et al.* GM-CSF Associated thrombocytopenia in dogs: increased destruction of circulating platelets. *Blood* 1995; in press.
- 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.
- NEUBAUER MA, BENYUNES MC, THOMPSON JA, *et al.* 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 Transplantation* 1994; **13**:311-316.
- NEUMUNAITIS J, ROSENFELD C, COLLIN R *et al.* Pilot trial of allogeneic transplant combining peripheral blood and bone marrow in patients with refractory haematologic disease. *Blood* 1993, **82** (Suppl 1): 417a.
- NEUMUNAITIS J, ROSENFELD C, COLLINS R, *et al.* Pilot trial of allogeneic transplant combining peripheral blood and bone marrow in patients with refractory hematologic malignancy. *ASCO* 1994; **417a** (abstr).

- NIEDERWIESER D, PEPE M, STORB R, LOUGHRAN TP, JR., LONGTON G, for the Seattle Marrow Transplant Team. Improvement in rejection, engraftment rate and survival without increase in graft-versus-host disease by high marrow cell dose in patients transplanted for aplastic anemia. *Br J Haematol* 1988; **69**:23-28.
- O'REILLY RJ, KERNAN N, CUNNINGHAM I, *et al.* Soybean lectin agglutination and E-rosette depletion for removal of T-cells from HLA-identical and non-identical marrow grafts administered for the treatment of leukemia. In: Martelli MF, Grignani F, Reisner Y. (eds): *T-cell Depletion in Allogeneic Bone Marrow Transplantation*. Rome: Ares-Serono Symposia, 1988, p 123-129.
- ODLON DJ, PAUL S, OBLON MB, YANKEE R. Allogeneic peripheral blood stem cell transplants: Preliminary results. *Bone Marrow Transplantation* 1994; **84**(10):94a(abstr).
- OLIVIERI A, OFFIDANI M, CINIERO L *et al.* Optimization of the yield of PCTP for autotransplantation mobilised by high-dose chemotherapy and G-CSF: proposal of a mathematical model. *Bone Marrow Transplant* 1994, **14**: 273-278.
- PAGLIUCA A, MJOVIC A, JEANES A, PERRY A, MULFI GJ. Delayed platelet regeneration following allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation for acute leukemia. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15** (Supp2):S29. (abstr)
- REIFFERS J, LEVERGER G, MARIT G *et al.* Haemopoietic reconstitution after autologous blood stem cell transplantation. In: Gale RP, Champlin R (eds). *Bone Marrow Transplantation: current controversies*. Liss: New York, 1989, 313-320.
- RICE A, REIFFERS J. Mobilized blood stem cells: Immunophenotyping and functional characteristics. *J. Hematotherapy* 1992; **1**:19-26.
- RICE A, BARBOT C, LACOMBE F, *et al.* 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, *et al.* Cytokine-mediated expansion of 5-FU-resistant peripheral blood stem cells. *Exp. Hematol* 1995; **23**:303-308.

- ROZMAN C, URBANO-ISPIZUA A, SIERRA J, *et al.* Allogeneic peripheral blood stem cell (PCTP) transplantation. Report of four cases. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15** (Supp2):S27. (abstr).
- RUSSELL NH, HUNTER A, 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 Transplantation* 1994; **13**:353-355.
- RUSSELL J, BOWEN T, BROWN C, *et al.* Single centre experience of allogeneic blood cell transplants: accelerated engraftment without increased acute GVHD compared with TMO. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15** (Supplement2):S5.(abstr)
- RUSSELL JA, BOWEN T, BROWN C, *et al.* Allogeneic blood cell transplants for haematological malignancy: Comparison of engraftment and graft-versus-host disease with bone marrow transplantation. *Lancet* in press, 1995.
- RUSSELL JA, LUIDER J, WEAVER M, *et al.* Collection of progenitor cells for allogeneic transplantation from peripheral blood of normal donors. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15**:111-115.
- SANDMAIER BM, BASTIANELLI C, SANTOS E, SCHWARZINGER I, RAFF R, STORB R. Evaluation of peripheral blood mononuclear cell dose and T-cell subpopulation required for enhancement of engraftment in unrelated dog leukocyte antigen (DLA)-nonidentical marrow transplants. *Bone Marrow Transplantation* 1994; **84** (Suppl. 1):347a.
- SANDMAIER BM, KIEM HP, DE REVEL T, SCHUENING FG, APPELBAUM FR, STORB R. Peripheral blood stem cell transplantation in the canine model. *Bone Marrow Transplantation* 1994; Supp 2:139. (abstr)
- SASAKI A, TSUKAGUCHI M, HIRAI M, *et al.* Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells after myeloablative treatment of a patient in blastic crisis of chronic myelocytic leukemia. *Am J Hematol* 1994; **47**:45-49.

- SCHMITZ N, DREGER P, SUTTORP M, *et al.* Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilised by Filgrastim (G-CSF). *Blood* 1995; **85**:1666-1672.
- SCHWINGWER W. Single dose of filgrastim (rhG-CSF) increases the number of hematopoietic progenitors in the peripheral blood of adult volunteers. *Bone Marrow Transplantation* 1993; **11**:489-492.
- SCOTT MA, JESTICE HK, APPERLY JF. Quality of progenitor cells in mobilized peripeheral blood. *Bone Marrow Transplantation* 1994; **2**:172.
- SHERIDAN WP, BEGLEY CG, JUTTNER CA *et al.* Effect of peripheral blood progenitor cells mobilised by filgrastim on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet* 1992, **339**: 640-644.
- SICA S, RUTELLA S, DI MARIO *et al.* G-CSF in healthy subjects for HLA-identical donor leukocytes collection. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **15**(Supp 2):S27 (abstr)
- STONE RM, NEUBERG D, SOIFFER R, *et al.* Myelodysplasia syndrome as a late complication following autologous bone marrow for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; **12**:2535-2542.
- STORB R, EPSTEIN RB, RADGE H, THOMAS ED. Marrow engraftment by allogeneic leukocytes in lethally irradiated dogs. *Blood* 1967; **30**:805-811.
- STORB R, PRENTICE RL, SULLIVAN KM, SHULMAN HM, DEEG HJ, DONEY KC, BUCKNER CD, CLIFT RA, WHITERSPOON RP, APPELBAUM FA, SANDERS JA, STEWART PS, THOMAS ED. Predictive factors in chronic graft-versus-host-disease in patients with aplastic anemia treated by marrow transplantation from HLA identical siblings. *Ann.Intern. MED.* 1983; 461-466.
- SUZUE T, KAWANO Y, TAKAUE Y, KURODA Y. Cell processing protocol for allogeneic peripheral blood stem cells mobilised by granulocyte colony-stimulating factor. *Exp Hematol* 1994; **22**:888-892.

- TANAKA J, IMAMURA M, ZHU X, *et al.* Potential benefit of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells for allogeneic transplantation (Letter). *Blood* 1994; **84**:3595-3596.
- TO LB, ROBERTS MM, HAYLOCK DN *et al.* Comparison of haematological recovery times and supportive care requirements of autologous phase peripheral blood stem cell transplants, autologous bone marrow transplants and allogeneic bone marrow transplants. *Bone Marrow Transplant* 1992, **9**:255-284.
- TO LB, HAYLOCK DN, DOWSE T, *et al.* A comparative study of the phenotype and proliferative capacity of peripheral blood (PB) CD34+ cells mobilized by four different protocols and those of steady-phase PB and bone marrow CD34+ cells. *Blood* 1994; **84**:2930-2939.
- TUTSCHKA PJ, COPELAN EA, KLEIN JP: Bone marrow transplantation for leukemia following a new busulfan and cyclophosphamide regimen. *Blood* **70**:1382, 1987.
- VERBIK DJ, JACKSON JD, PIRRUCCELLO SJ, PATIL KD, KESSINGER A, JOSHI SS. Functional and phenotypic characterization of human peripheral blood stem cell harvest: A comparative analysis of cells from consecutive collections. *Blood* 1995; **7**:1964-1970.
- WEAVER CH, BUCKNER CD, LONGIN K, *et al.* Syngeneic transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1993; **82**:1981-1984.
- WEAVER CH, LONGIN K, BUCKNER CD, BENSINGER W. Lymphocyte content in peripheral blood mononuclear cells collected after the administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Bone Marrow Transplantation* 1994; **13**:411-415.
- WIESNETH M, SCHREINER T, FRIEDRICH W, KUBANEK B. Mobilization of allogeneic blood stem cells and T-cell depletion of the graft. *Bone Marrow Transplantation* 1995; Supp **2**:S28. (abstr)



9. Anexos

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

PACIENTE MAIOR DE IDADE.

Autorizo à equipe médica do HEMOCENTRO/UNICAMP, sob a coordenação do Dr. Wellington Moraes de Azevedo, a realizar em minha pessoa um TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA utilizando para este fim a medula óssea ou células-tronco do sangue periférico do doador

_____.

Informo ainda que estou plenamente informado das minhas condições clínicas atuais, dos riscos que tal procedimento naturalmente encerra (alguns eventualmente fatais) e que não existem, no momento, outras opções terapêuticas que sejam superiores ao transplante de medula óssea em relação à chances de cura e duração de sobrevivência livre de doença para a moléstia, _____, na fase em que se encontra,

_____.

Foram discutidos comigo os detalhes do procedimento, as drogas que serão utilizadas, os efeitos colaterais esperados e a possibilidade da ocorrência de efeitos indesejáveis inesperados. Dos problemas que potencialmente podem ocorrer os seguintes foram salientados: a ocorrência certa de um quadro transitório de APLASIA MEDULAR durante o qual o número dos leucócitos e das plaquetas se reduzirão à níveis críticos com riscos de infecção e hemorragias que cessarão quando a medula óssea transplantada começar a funcionar em mais ou menos 3-4 semanas após o transplante; a ocorrência de

EFEITOS TÓXICOS na sua grande maioria transitórios, mas eventualmente graves e fatais, provocados pelos medicamentos administrados, principalmente sobre o fígado, pulmões, sistema nervoso, pele, rins e sistema digestivo foi abordada com detalhes assim como as medidas adequadas ao seu tratamento; a possibilidade de REJEIÇÃO DA MEDULA transplantada assim como a da ocorrência do fenômeno da DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO também foi discutida além das medidas preventivas disponíveis e as terapêuticas necessárias caso estes problemas venham a se manifestar; também se discutiu a possibilidade da ocorrência de efeitos colaterais à longo prazo provocados pelo procedimento e dentre eles foram enfatizados a DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO CRÔNICA, a ESTERILIDADE, e o aumento da chance de se adquirir outras DOENÇAS MALIGNAS.

Também se discutiu sobre o prognóstico da doença e as opções terapêuticas alternativas ao transplante, estando consciente de que embora o transplante seja a alternativa que oferece mais chances de cura a ocorrência de uma recaída da doença é possível e que não existem garantias de cura.

Todas as minhas perguntas foram adequadamente respondidas e as minhas dúvidas esclarecidas; a opção do transplante é de minha inteira responsabilidade, foi tomada de modo consciente, voluntário e com a participação dos meus familiares mais próximos.

Campinas, ____ / ____ / ____.

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

DOADOR MAIOR DE IDADE

Autorizo à equipe médica do HEMOCENTRO/UNICAMP sob a coordenação do Dr. Wellington Morais de Azevedo a coletar minha medula óssea ou células-tronco do sangue periférico no dia ____/____/____, para a realização de um TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA em _____, portador da doença _____, que se encontra em _____.

Informo que estou consciente que a coleta da medula óssea será realizada sob anestesia geral e dos riscos, apesar de raros, que poderão ocorrer conseqüentemente à anestesia e em caso de transplantes utilizando células-tronco do sangue periférico a coleta será feita através de **afereze**, procedimento este, que me foi explicado em detalhes, assim como os riscos relacionados ao mesmo. Além disso, concordo em receber medicamentos que estimulem a circulação de células-tronco antes da doação, como também que pode haver a necessidade de coleta de medula óssea, caso haja falha de “pega” medular.

Estou suficientemente esclarecido(a) das conseqüências para o receptor (letais) caso não haja a coleta da minha medula óssea na data especificada acima. Para isto, não me ausentarei a partir do momento em que o receptor interna e estarei pronto(a) para a internação assim que seja solicitada pela equipe do transplante de medula óssea.

Todas as minhas perguntas foram adequadamente respondidas e as minhas dúvidas esclarecidas; a opção da doação é de minha inteira responsabilidade, foi tomada de modo consciente, voluntário e com a participação dos meus familiares mais próximos.

Campinas, ____ / ____ / ____.

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

PACIENTE MENOR DE IDADE

Autorizo à equipe médica do HEMOCENTRO/UNICAMP, sob a coordenação do Dr. Wellington Moraes de Azevedo, a realizar em meu (minha) filho(a) um TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA utilizando para este fim a medula óssea ou células-tronco do sangue periférico do doador

Informo ainda que estou plenamente informado das condições clínicas atuais, dos riscos que tal procedimento naturalmente encerra (alguns eventualmente fatais) e que não existem, no momento, outras opções terapêuticas que sejam superiores ao transplante de medula óssea em relação às chances de cura e duração de sobrevida livre de doença para a moléstia, _____, na fase em que se encontra, _____.

Foram discutidos comigo os detalhes do procedimento, as drogas que serão utilizadas, os efeitos colaterais esperados e a possibilidade da ocorrência de efeitos indesejáveis inesperados. Dos problemas que potencialmente podem ocorrer os seguintes foram salientados: a ocorrência certa de um quadro transitório de APLASIA MEDULAR durante o qual o número dos leucócitos e das plaquetas se reduzirão à níveis críticos com riscos de infecção e hemorragias que cessarão quando a medula óssea transplantada começar a funcionar em mais ou menos 3-4 semanas após o transplante; a ocorrência de

EFEITOS TÓXICOS na sua grande maioria transitórios, mas eventualmente graves e fatais, provocados pelos medicamentos administrados, principalmente sobre o fígado, pulmões, sistema nervoso, pele, rins e sistema digestivo foi abordada com detalhes assim como as medidas adequadas ao seu tratamento; a possibilidade de REJEIÇÃO DA MEDULA transplantada assim como a da ocorrência do fenômeno da DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO também foi discutida além das medidas preventivas disponíveis e as terapêuticas necessárias caso estes problemas venham a se manifestar; também se discutiu a possibilidade da ocorrência de efeitos colaterais à longo prazo provocados pelo procedimento e dentre eles foram enfatizados a DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO CRÔNICA, a ESTERILIDADE, e o aumento da chance de se adquirir outras DOENÇAS MALIGNAS.

Também se discutiu sobre o prognóstico da doença e as opções terapêuticas alternativas ao transplante, estando consciente de que embora o transplante seja a alternativa que oferece mais chances de cura a ocorrência de uma recaída da doença é possível e que **não existem garantias de cura.**

Todas as minhas perguntas foram adequadamente respondidas e as minhas dúvidas esclarecidas; a opção do transplante é de minha inteira responsabilidade, foi tomada de modo consciente, voluntário e com a participação dos meus familiares mais próximos.

Campinas, ____ / ____ / ____.

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

DOADOR MENOR DE IDADE

Autorizo à equipe médica do HEMOCENTRO/UNICAMP sob a coordenação do Dr. Wellington Moraes de Azevedo a coletar a medula óssea ou células-tronco do sangue periférico do meu (minha) filho (a) no dia ____ / ____ / ____, para a realização de um TRANSPLANTE DE MEDULA OSSEA em _____, portadora da doença _____, que se encontra em _____.

Informo que estou consciente que a coleta da medula óssea será realizada sob anestesia geral e dos riscos, apesar de raros, que poderão ocorrer conseqüentemente à anestesia e em caso de transplantes utilizando de células-tronco do sangue periférico a coleta será feita através de **afereze**, procedimento este, que me foi explicado em detalhes, assim como as riscos do mesmo. Além disto, concordo em receber medicamentos que estimulem a circulação de células-tronco antes da doação, como também que pode haver a necessidade de coleta de medula óssea, caso haja falha de “pega” medular.

Estou suficientemente esclarecido(a) das conseqüências para o receptor (letais) caso não haja a coleta da medula óssea na data especificada acima. Para isto, o doador não se ausentará a partir do momento em

que o receptor internar e estará pronto(a) para a internação assim que seja solicitada pela equipe do *transplante de medula óssea*.

Todas as minhas perguntas foram adequadamente respondidas e as minhas dúvidas esclarecidas; a opção da doação é de minha inteira responsabilidade, foi tomada de modo consciente, voluntário e com a participação dos meus familiares mais próximos.

Campinas, ____ / ____ / ____.