



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

PAULA SOFIA CUNHA SACRAMENTO

***TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES
HEMATOPOIÉTICOS EM HEMATOLOGIA***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA CATARINA ISABEL GERALDES

PROFESSORA DOUTORA ANA BELA SARMENTO ANTUNES DA CRUZ RIBEIRO

MARÇO/2017

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

**TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOIÉTICOS
EM HEMATOLOGIA**

Paula Sofia Cunha Sacramento¹

Professora Doutora Catarina Isabel Geraldes

Professora Doutora Ana Bela Sarmento Antunes da Cruz Ribeiro

¹ Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina – Faculdade de Medicina,
Universidade de Coimbra, Portugal

Endereço de e-mail: sofiacsacramento@gmail.com

Índice

Resumo.....	4
Abstract	6
Lista de Figuras	8
Lista de Tabelas.....	8
Lista de Abreviaturas	9
1. Introdução.....	12
2. Nota histórica	14
3. Biologia e adesão celular das células estaminais hematopoiéticas	17
4. Transplante de progenitores hematopoiéticos	22
4.1. Fontes de células estaminais hematopoiéticas	24
4.1.1. Células estaminais da medula óssea.....	24
4.1.2. Células estaminais do sangue periférico	26
4.1.3. Células do sangue do cordão umbilical.....	28
5. Transplante autólogo de progenitores hematopoiéticos	30
5.1. Principais indicações	31
5.2. Mobilização de células progenitoras hematopoiéticas.....	36
5.2.1. Novos agentes de mobilização	40
5.2.1.1. AMD3100 (Plerixafor).....	40
5.2.1.2. Anticorpos anti VLA-4.....	42
5.2.1.3. Paratormona	43
5.2.1.4. Eritropoietina.....	43
5.2.1.5. Fator de células estaminais.....	44
5.2.1.6. Trombopoietina recombinante humana.....	44

5.2.1.7. SB-251353.....	44
5.2.1.8. Reaproveitamento farmacológico	45
5.2.1.9. Polissacarídeos naturais e sintéticos.....	45
5.2.2. Insucesso na mobilização	46
5.3. Colheita de células estaminais hematopoiéticas.....	49
5.3.1. Métodos de preservação das células estaminais.....	52
5.4. Condicionamento pré-transplante	54
5.5. Transplante e recuperação hematopoiética	57
5.6. Complicações associadas	58
5.6.1. Infecções	60
5.6.2. Complicações precoces não-infecciosas	63
5.6.3. Complicações tardias não-infecciosas	68
5.7. Limitações do transplante autólogo	70
6. Conclusão e orientações futuras	72
Referências Bibliográficas	74

Resumo

O transplante autólogo de progenitores hematopoiéticos (TAPH) possibilita a recuperação hematopoiética após regimes de condicionamento mieloablativos com doses elevadas de quimioterapia/radioterapia (QT/RT). Os progenitores hematopoiéticos são obtidos do próprio doente, criopreservados e posteriormente transplantados.

A utilização de QT de alta dose com suporte autólogo de células progenitoras hematopoiéticas (HSCs) é uma estratégia eficaz no tratamento de diversas neoplasias hematológicas, tais como linfomas não-Hodgkin (LNH), linfoma de Hodgkin (LH) e mieloma múltiplo (MM), bem como no tratamento de doenças autoimunes e tumores sólidos.

As células progenitoras mobilizadas para o sangue periférico constituem a principal fonte para o transplante autólogo, sendo a colheita (técnica de aférese) de um número adequado de HSCs uma etapa fundamental. O número ótimo de células estaminais recomendado para o transplante é de 5×10^6 células CD34⁺ (glicoproteína expressa na superfície das HSCs) por quilograma de peso do doente.

O fator de crescimento de colónias de granulócitos (G-CSF) é o principal agente utilizado na mobilização das HSCs (isoladamente ou em associação com QT), da medula óssea para o sangue periférico. No entanto, o método ideal capaz de maximizar a colheita de células estaminais e minimizar os custos associados ainda não foi estabelecido, tendo surgido na última década novos agentes de mobilização, entre os quais o AMD3100 (Plerixafor), um antagonista do CXCR4 (receptor C-X-C de quimiocinas tipo 4) e os anticorpos anti-VLA-4 (antigénio de ativação tardia 4).

Numa perspetiva geral, o TAPH proporciona uma melhoria no controlo da doença e das taxas de sobrevivência, no entanto os potenciais riscos e complicações associados a todo o processo, e individualizados a cada doente, devem ser cuidadosamente ponderados. As infeções constituem uma das principais causas de mortalidade e morbilidade relacionadas ao

transplante, tanto no período precoce, como tardio do mesmo, sendo a recidiva da doença primária a principal causa de insucesso a longo prazo.

Palavras-Chave: Transplante autólogo de células estaminais hematopoiéticas; Células CD34⁺; Mobilização sangue periférico; Condicionamento pré-transplante; Complicações.

Abstract

Autologous hematopoietic stem cells transplantation allows the hematopoietic recovery after myeloablative conditioning regimens with high doses of chemotherapy/radiotherapy. Hematopoietic progenitors are obtained from the patient himself, cryopreserved and subsequently transplanted.

The use of high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cells (HSCs) support is an effective strategy in the treatment of several hematological malignancies, such as non-Hodgkin's lymphomas, Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma, as well as in the treatment of autoimmune diseases and solid tumors.

Stem cells mobilized into the peripheral blood are the main source for autologous transplantation, and is fundamental an adequate harvest number of the HSC (apheresis technique). The optimal number of stem cells recommended for transplantation is 5×10^6 of cells CD34 + (glycoprotein expressed in HSC surface) per kilogram of patient's body weight.

Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) is the main agent used in the mobilization of HSCs (alone or in combination with chemotherapy), from bone marrow to peripheral blood. However, the ideal method to maximize stem cell harvesting and minimize associated costs has not yet been achieved, and new mobilization agents have emerged in the last decade, including AMD3100 (Plerixafor), a CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4) antagonist and anti-VLA-4 (very late antigen-4) antibodies.

In general, autologous hematopoietic stem cells transplantation improved the disease control and survival rates. However, the potential risks and complications associated with the entire process should be carefully weighted and individualized to each patient. Infections are one of the main causes of mortality and morbidity associated with transplantation, both in the early and late stages of the disease, with relapse of the primary disease being the main cause of long-term failure.

Keywords: Autologous hematopoietic stem cells transplantation; CD34⁺ cells; Peripheral Blood mobilization; Pré-transplant conditioning; Complications.

Lista de Figuras

Figura 1: Cronograma identificativo da evolução do transplante de medula óssea (TMO) ao longo dos anos, de 1957-2006.

Figura 2: Registo europeu do número de transplantes de progenitores hematopoiéticos, autólogo e alogénico, de 1990-2010.

Figura 3: Propriedades das células estaminais.

Figura 4: Esquema representativo do sistema de formação dos vários tecidos do organismo a partir do zigoto, com ênfase no processo de diferenciação das HSCs.

Figura 5: Mobilização e adesão à MO de HSCs transplantadas.

Figura 6: Colheita de células estaminais da MO.

Figura 7: Máquina de aférese responsável pela colheita das células estaminais mobilizadas.

Figura 8: Principais etapas do TAPH.

Figura 9: Patologias indicadas para TAPH na Europa em 2013.

Figura 10: Mobilização de HSCs com G-CSF.

Figura 11: Mobilização de HSCs pelo AMD3100.

Figura 12: Etapas subsequentes ao processo de colheita das células estaminais até ao transplante.

Figura 13: Condicionamento pré-transplante.

Figura 14: Transplante de HSCs por cateter venoso central.

Figura 15: Infecções comuns no TAPH.

Figura 16: Mucosite oral após transplante de células estaminais.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Fatores de probabilidade ou evidência de insucesso na mobilização.

Tabela 2: Modalidades de condicionamento no transplante autólogo.

Tabela 3: Complicações major do TAPH.

Lista de Abreviaturas

4-HC: 4-hidroperoxiciclofosfamida

ASBMT: *American Society for Blood and Marrow Transplantation*

BEACOPP: bleomicina, etoposide, doxorrubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazona e prednisona

Bz: Bortezomib

CMV: Citomegalovírus

CY: Ciclofosfamida

CXCR2: recetor C-X-C de quimiocinas tipo 2

CXCR4: recetor C-X-C de quimiocinas tipo 4

Dex: Dexametasona

DHAP: dexametasona, cisplatina e citarabina

DMSO: Dimetilsulfóxido

EBMT: Sociedade Europeia para o transplante de medula óssea e sangue periférico

EPO: Eritropoietina

ESHAP: etoposide, metilprednisolona, cisplatina e citarabina

G-CSF: Fator de crescimento de colónias de granulócitos

GITMO: *Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo*

GM-CSF: Fator de crescimento de colónias de macrófagos e granulócitos

HLA: Antígeno leucocitário humano

HSCs: Células estaminais hematopoiéticas

HVS: *herpes vírus simplex*

ICE: ifosfamida, etoposide e carboplatina

LES: Lúpus eritematoso sistémico

LH: Linfoma Hodgkin

LLA: Leucemia linfoblástica aguda

LMA: Leucemia mielóide aguda

LMC: Leucemia mielóide crónica

LNH: Linfoma não-Hodgkin

LVL: Leucaférese de maior volume

Mab: Anticorpos monoclonais dirigidos contra o tumor

MO: Medula óssea

NK: *natural killer*

PCR: Reação em cadeia de polimerase

Pj: *Pneumocystis jiroveci*

PTH: Paratormona

QM: Químio-mobilização

QT: Quimioterapia

R-CHOP: rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisolona

R-CVP: rituximab, ciclofosfamida, vincristina e prednisolona

rhPTH: Teriparatide

rhTPO: Trombopoietina recombinante humana

RIC: Condicionamento de intensidade reduzida

ROS: Espécies reativas de oxigénio

RT: Radioterapia

SCF: Fator de células estaminais

SCU: Sangue do cordão umbilical

SDF-1: fator 1 derivado de células estromais

SHC: Síndrome de hiperpermeabilidade capilar

SMD: Síndrome mielodisplásica secundária

SOS: Síndrome de obstrução sinusoidal

TAPH: Transplante autólogo de progenitores hematopoiéticos

TBI: Irradiação corporal total

TC: Tomografia computadorizada

TMA: Microangiopatia trombótica

TMO: Transplante de medula óssea

TPH: Transplante de progenitores hematopoiéticos

uPA: Ativador do plasminogênio tipo urocinase

USCU: Unidade de sangue do cordão umbilical

VCAM-1: Molécula de adesão celular vascular 1

VLA-4: Antígeno de ativação tardia 4

VOD: Doença veno-oclusiva hepática

1. Introdução

As células estaminais são células com capacidade de diferenciação em diversas linhagens celulares, de autorrenovação e divisão indefinida, dando origem a células adultas que constituem os diversos tecidos e órgãos.

Em função da sua origem e/ou capacidade de diferenciação podem ser classificadas em dois grupos distintos, as células estaminais embrionárias e as células estaminais adultas. As células estaminais adultas, nomeadamente as células estaminais hematopoiéticas (HSCs), presentes na medula óssea (MO) e no cordão umbilical, são particularmente importantes para o tratamento de diversas patologias. Estas são capazes de repovoar a MO após destruição do sistema hematopoiético por irradiação ou quimioterapia (QT) letais.

No transplante autólogo de progenitores hematopoiéticos (TAPH) as HSCs são obtidas do próprio doente, numa fase precoce da doença, ou quando esta se encontra em remissão. Após a colheita das HSCs estas são criopreservadas e armazenadas, e posteriormente transplantadas.

Esta modalidade terapêutica possibilita a administração de altas doses de QT, com ou sem radioterapia (RT), que de outro modo resultaria em aplasia prolongada da MO, desempenhando um papel importante no tratamento de doenças hematológicas, como o linfoma e mieloma, doenças autoimunes e tumores sólidos.

O TAPH constitui assim uma modalidade terapêutica com crescente aplicação na medicina oncológica, sendo uma área de grande interesse e em constante atualização.

O objetivo primordial desta tese de mestrado é elaborar uma sistematização teórica da informação relativa ao Transplante Autólogo de Progenitores Hematopoiéticos.

Após uma breve contextualização histórica e descrição do sistema de formação das HSCs, é feita uma revisão de todo o processo envolvido no TAPH, desde as principais fontes

de células estaminais, a sua mobilização, colheita e posterior transplante, bem como a terapêutica prévia administrada (condicionamento), a recuperação hematopoiética e as principais complicações associadas a todo o procedimento.

2. Nota histórica

O TPH representa uma abordagem terapêutica potencialmente curativa para uma variedade de doenças hematológicas malignas e não malignas, doenças autoimunes, entre outras, sendo a sua aplicabilidade estudada há mais de 50 anos (Figura 1).^{1,2,3,4,5}

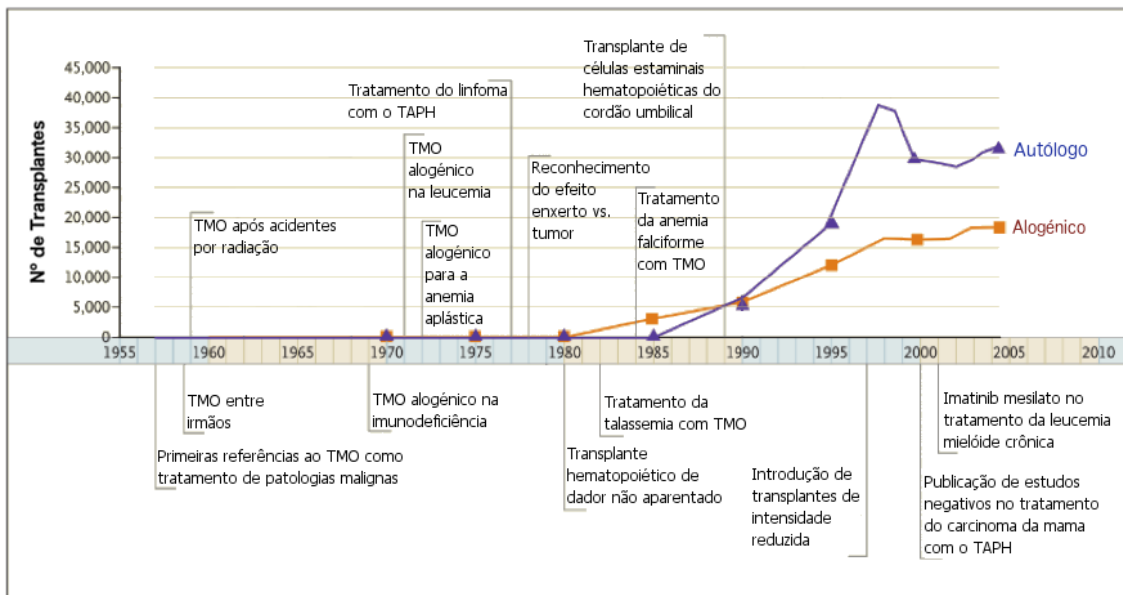


Figura 1: Cronograma identificativo da evolução do transplante de medula óssea (TMO) ao longo dos anos, de 1957-2006. TAPH – transplante autólogo de progenitores hematopoiéticos.⁴

Os estudos pioneiros relativos ao transplante de medula óssea (TMO) remontam a 1949 no período pós segunda guerra mundial, conduzidos pela equipa de Jacobson nos Estados Unidos. Tais estudos demonstraram a recuperação hematopoiética de murganhos após irradiação.^{4,6,7}

Os primeiros transplantes de progenitores hematopoiéticos alogénicos foram realizados por E. Donnall Thomas e relatados no *New England Journal of Medicine* no dia 12 de setembro de 1957. Seis doentes foram tratados com irradiação e QT, seguida de transplante de medula de um dador. Contudo, nenhum sobreviveu mais do que 100 dias depois do

transplante.^{1,4} Após vários estudos, Thomas concluiu que a escolha apropriada de um dador de medula era a chave do sucesso.⁴

Paralelamente, o primeiro registo bem-sucedido, de TAPH foi relatado em 1959.^{8,9} O mesmo descreve o caso de uma menina de 2 anos com Leucemia linfoblástica aguda recorrente (LLA) submetida a um tratamento de irradiação corporal total (TBI), seguido de TMO. Apesar de apresentar um estágio avançado de doença aquando do diagnóstico, 3 meses após o transplante a doente permanecia em remissão.⁸

Em meados da década de 1960, foram desenvolvidos métodos capazes de identificar e tipificar o sistema antigénio leucocitário humano (HLA), o que permitiu a correspondência entre dadores e recetores e o uso de dadores irmãos para o transplante.^{1,5,10}

No decorrer da década de 1970 registou-se um incremento no interesse pelo TMO aplicado à anemia aplástica e à leucemia, tendo as taxas de sobrevivência global aumentado mais de 70% nos doentes com estas patologias.^{4,5} Durante este período o transplante de medula autólogo demonstrou ser potencialmente útil quando aplicado a doentes com linfoma não-Hodgkin (LNH), sendo estes submetidos a QT de alta dose e posteriormente transplante da sua própria medula (autólogo), previamente colhida e criopreservada.⁴

O conhecimento da capacidade de criopreservação e armazenamento das HSCs autólogas foi aumentando a partir da década de 1980, tornando o uso do TAPH de MO comum, não apenas para o tratamento de doenças hematológicas, como também para tumores sólidos.⁵

Em 2010, 30.000 doentes foram tratados com transplante de HSCs em toda a Europa, dos quais 18.000 são referentes ao TAPH.^{1,2}

Através da análise da figura 2, demonstrativa da evolução do número de transplantes autólogos e alogénicos, é perceptível um aumento contínuo do recurso aos mesmos, desde 1990 até 2010.²

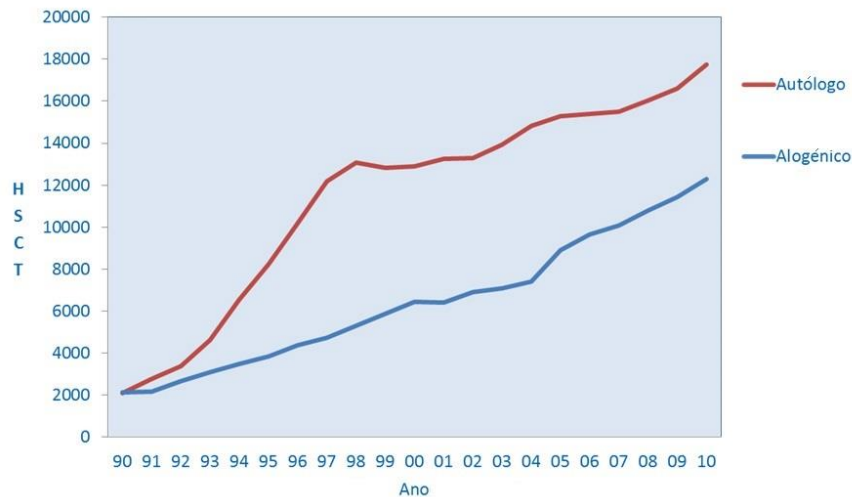


Figura 2: Registo europeu do número de transplantes de progenitores hematopoiéticos, autólogo e alogénico, de 1990-2010. HSCT – Transplante de células estaminais hematopoiéticas.²

Uma alteração na prática clínica determinou um ligeiro decréscimo no número de transplantes no início de 1998.^{1,2} O carcinoma metastático da mama foi uma das principais indicações para o TAPH na década de 1990 contudo, os ensaios clínicos realizados durante esse período não demonstraram nenhum benefício na sua prática. Atualmente, a aplicação do TAPH associado ao tratamento do carcinoma da mama é praticamente nula, tendo sido registados escassos casos por ano em todo o mundo.¹

Através de uma análise retrospectiva, de 1950 até à atualidade, é interessante constatar que, embora tenha ocorrido uma importante evolução na área do TPH, muitos dos conceitos básicos permanecem os mesmos.⁵

3. Biologia e adesão celular das células estaminais hematopoiéticas

As células estaminais detêm o potencial de se desenvolverem e diferenciarem em vários tipos de células do organismo, distinguindo-se das demais com base em duas importantes características, a capacidade de auto-renovação e de diferenciação (Figura 3).^{10,11,12} São assim, detentoras da capacidade única de produzir células filhas com as mesmas propriedades das células que lhes deram origem.¹⁰

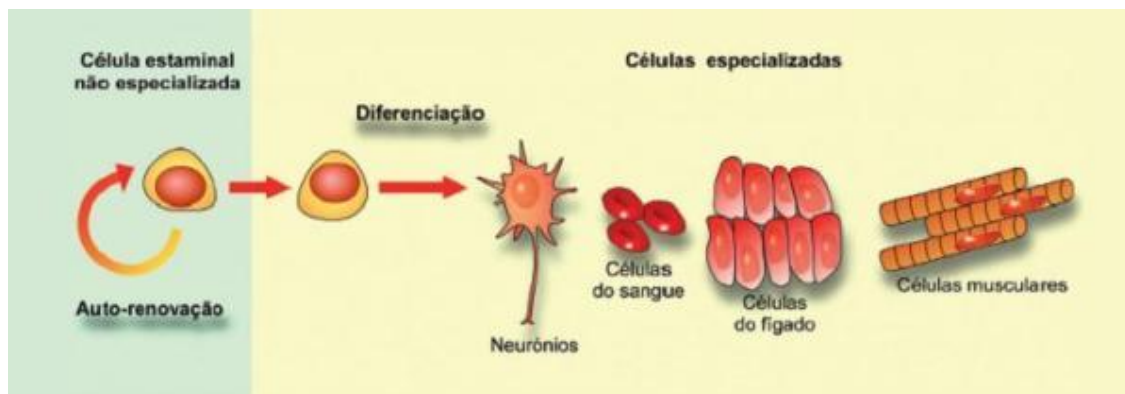


Figura 3: Propriedades das células estaminais.¹⁰

As células estaminais estão presentes na MO, cérebro, fígado, pele, entre outros tecidos, e atuam como um mecanismo de reparação, dividindo-se indefinidamente e substituindo células mortas ou danificadas, o que assegura a manutenção dos tecidos e órgãos durante toda a vida.^{11,12}

Quando uma célula estaminal se divide, cada nova célula adquire o potencial de auto-renovação ou a capacidade de se diferenciar numa célula especializada como, por exemplo, uma célula sanguínea.¹³

Tendo como base o sistema de formação dos vários tecidos do organismo a partir do zigoto (Figura 4), é possível obter uma melhor compreensão acerca da formação das HSCs, da sua biologia e das suas aplicações clínicas.¹⁴

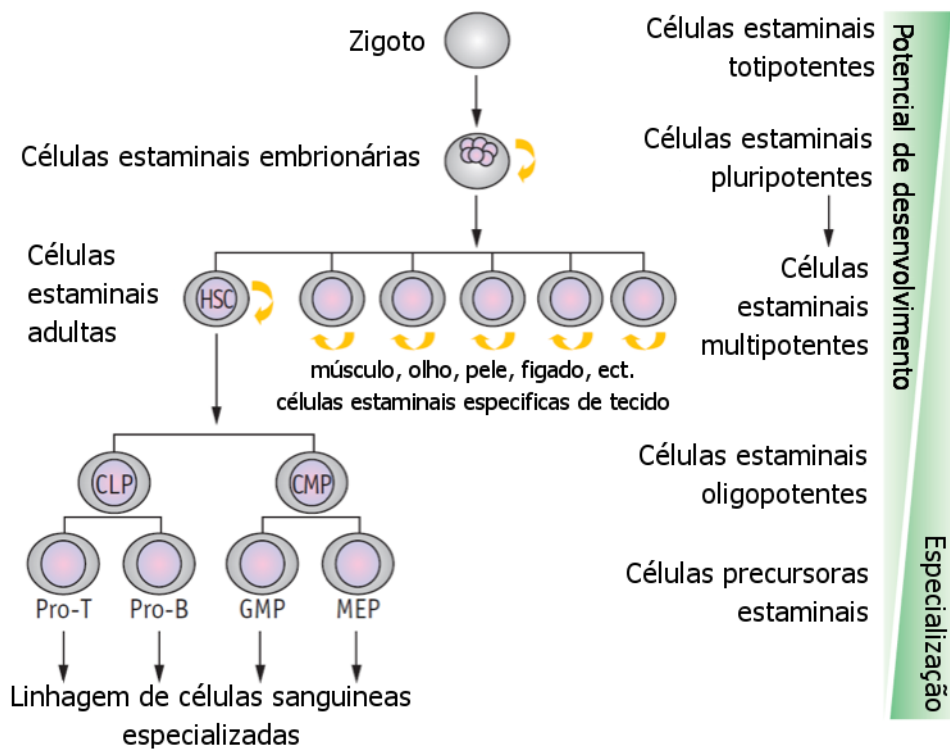


Figura 4: Esquema representativo do sistema de formação dos vários tecidos do organismo a partir do zigoto, com ênfase no processo de diferenciação das HSCs: CLP – Progenitor linfóide comum; CMP – Progenitor mielóide comum; GMP – Progenitores de granulócitos e monócitos; MEP – Progenitores de megacariócitos e eritrócitos.¹⁴

Um ovo fertilizado (zigoto) representa uma célula estaminal totipotente, com potencial de diferenciação ilimitado, a única célula com a capacidade de originar todas as células necessárias para o desenvolvimento de órgãos fetais e adultos. Por outro lado, as células estaminais embrionárias, sendo células estaminais pluripotentes, têm a capacidade de se diferenciarem em todos os tecidos do organismo adulto, excluindo placenta e anexos embrionários. Relativamente às células estaminais multipotentes, presentes nos tecidos somáticos adultos, estas podem originar um número limitado de diferentes células. Detêm assim a capacidade de manter a homeostasia, repondo a população de células maduras de um dado tecido ou órgão, e de responder a situações de *stress* através da reparação do tecido danificado. Por fim, as HSCs são o protótipo de células estaminais multipotentes do tecido adulto. Num processo de diferenciação gradual, as HSCs dão origem aos precursores

oligopotententes das linhagens linfóide e mielóide, e ainda, aos precursores unipotentes restritos à linhagem de células sanguíneas maduras.^{12,14}

As HSCs são assim uma população rara de células, representando cerca de 0,01% de todas as células na MO de um adulto.^{11,15}

No feto, as HSCs surgem pela primeira vez num ambiente extraembrionário (saco vitelino) e intraembrionário (esplancnopleura), migrando seguidamente para o fígado através da corrente sanguínea onde irão proliferar e diferenciar nas diferentes linhagens de células sanguíneas. Durante os estágios finais do desenvolvimento embrionário as HSCs migram do fígado fetal para a MO, guiadas por sinais provenientes dos ossos recém-formados.^{16,17,18}

Na MO, as HSCs residem num microambiente especializado designado de “nicho”, sendo a sua proliferação e diferenciação controladas, não apenas por fatores de crescimento solúveis, mas também pela adesão a células estromais (células estaminais mesenquimais) e moléculas da matriz.^{17,19,20} É através da inibição destas interações adesivas que as células sanguíneas maduras alcançam a circulação.^{19,21}

Um pequeno número de células estaminais pode atingir a corrente sanguínea antes da maturação, sendo designadas por células estaminais do sangue periférico.^{18,21,22}

Como referido previamente as HSCs aderem ao microambiente da MO através de inúmeras interações. Além disso, expressam uma grande variedade de recetores de superfície, tais como as moléculas de adesão associadas com a angiopoetina-1, o antigénio de ativação tardia 4 (VLA-4), o MAC-1, o recetor C-X-C de quimocinas tipo 4 (CXCR4) e tipo 2 (CXCR2), as glicoproteínas de superfície CD44 e CD62L, e o recetor de tirosina cinase (C-KIT). Quanto ao estroma da MO, este contém o fator 1 derivado de células estromais (SDF-1), a quimocina CXC GRO- β , a molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), o fator de células estaminais (SCF), o ligando da P-selectina e o ácido hialurónico.^{17,20,22,23,24}

Todos estes fatores são responsáveis pela eficiente adesão das HSCs na MO representando um dos pré-requisitos que conduzem a um enxerto bem-sucedido após o transplante (Figura 5).¹⁷

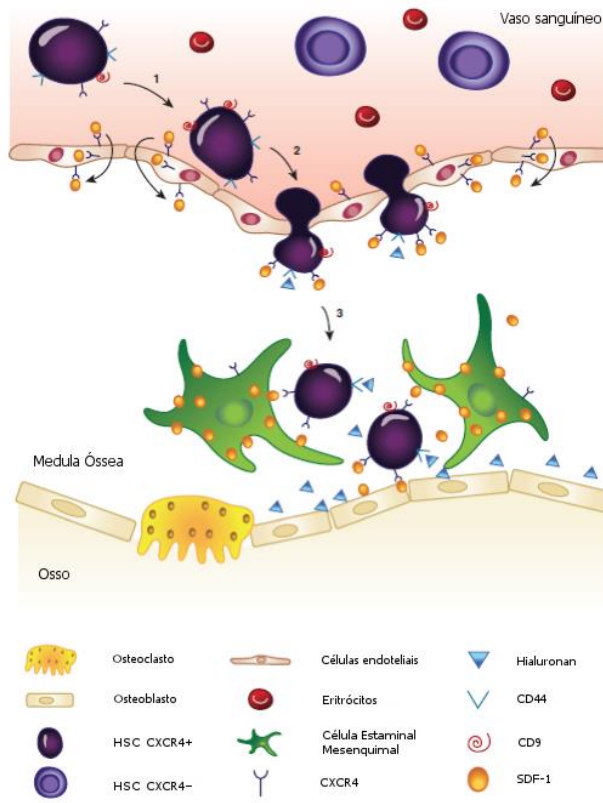


Figura 5: Mobilização e adesão à MO de HSCs transplantadas. Mobilização e adesão (1) de HSCs transplantadas provenientes da circulação sanguínea, seguida de migração trans-endotelial através da barreira física entre o sangue e a medula (2). A interação entre o fator 1 derivado de células estromais (SDF-1) -CXCR4, incluindo a translocação do SDF-1 e a sua secreção sequencial para a medula óssea, bem como a interação CD44-hialuronano e o CD9, são reguladores chave da adesão das células estaminais humanas ao estroma da medula óssea (3).¹⁷

Para além disso, dados pré-clínicos demonstraram que a inibição das interações recetor-ligando conduz a um aumento da mobilização de células progenitoras, fundamental para uma colheita eficaz de células estaminais.^{23,24}

Com base nas inúmeras características e potencialidades mencionadas anteriormente, é importante lembrar a capacidade que uma única célula estaminal apresenta de restaurar todo o sistema hematopoiético humano, quando sujeito a altas doses de irradiação.^{10,25} É este

notável potencial regenerativo que torna as HSCs uma fonte atrativa na terapêutica dirigida a doentes com uma variedade de distúrbios genéticos, insuficiência da MO adquirida e carcinomas.^{14,15,26}

4. Transplante de progenitores hematopoiéticos

Desde que os primeiros TPH foram realizados, há mais de 50 anos, esta modalidade tornou-se uma opção terapêutica para a recuperação medular e imune em doentes com uma variedade de distúrbios malignos e não malignos, adquiridos e herdados.^{16,27,28} Estes incluem neoplasias malignas hematológicas (por exemplo, leucemia, linfoma e mieloma), distúrbios não malignos da MO (anemia aplástica) e doenças genéticas associadas a hematopoiese e funcionalidade anormais (talassemia, anemia falciforme e imunodeficiência combinada grave). O transplante é também utilizado no suporte a doentes submetidos a QT de alta dose, para o tratamento de tumores sólidos para os quais a toxicidade hematológica limitaria a administração farmacológica (por exemplo, tumor das células germinativas, sarcomas de tecidos moles e neuroblastoma).²⁷

Apesar das altas doses de QT (por vezes associada a RT), apresentarem melhores resultados no tratamento de certas patologias, comparativamente às doses convencionais, estas podem eliminar todas as células estaminais e provocar uma diminuição na produção de células sanguíneas pela MO. Assim, o TPH tem a capacidade de ultrapassar este efeito através da reposição das células estaminais destruídas, restaurando a normal funcionalidade medular.^{21,29}

As células estaminais são geralmente administradas ao doente através de um cateter venoso central. Com o tempo, as HSCs instalam-se na MO e iniciam o processo de crescimento (“homing”), produzindo células sanguíneas saudáveis. A este processo atribui-se o nome de “engraftment”.²¹

De acordo com o dador de células estaminais, o TPH pode ser dividido em três subtipos distintos:^{21,30}

- Autólogo: as células estaminais colhidas provêm do próprio doente.

- Alogénico: as células estaminais são obtidas a partir de dadores saudáveis, irmãos (dador aparentado) ou dadores anónimos (dador não aparentado).
- Singénico: as células são provenientes do irmão gémeo idêntico, representando a modalidade mais rara de transplante.

Por outro lado, dependendo do tipo de transplante que é realizado, há três possíveis fontes de células estaminais:^{21,31}

- Medula óssea (do próprio doente ou de um dador);
- Sangue periférico (do próprio doente ou de um dador);
- Sangue do cordão umbilical de um recém-nascido.

Tradicionalmente as HSCs eram recolhidas através de múltiplas aspirações da MO.^{16,31} Contudo, a descoberta da sua capacidade de migração da medula até ao sangue periférico (mobilização), local onde podem facilmente ser recolhidas, alterou radicalmente a prática clínica.^{15,16,30,32} Na atualidade as células estaminais mobilizadas para o sangue periférico são usadas na grande maioria (mais de 90%) dos TPH.¹⁶

No entanto, um fracasso no processo de mobilização celular pode conduzir a um “enxerto” deficitário, a um aumento da morbilidade e da utilização de recursos bem como a um incremento nos custos.^{33,34} Para assegurar os melhores resultados no processo de mobilização vários fatores devem ser considerados, entre eles, a melhor estratégia a aplicar, o tempo de recolha das células estaminais e a identificação de fatores de risco.^{33,35,36}

Em suma, apesar das taxas de sucesso associadas ao TPH no tratamento de milhares de indivíduos com doenças oncológicas, que de outra forma não teriam sobrevivido, os possíveis riscos e complicações associados podem representar uma ameaça à sobrevivência do doente. Como tal, os riscos e benefícios devem ser cuidadosamente ponderados. O estágio do tumor, a idade do doente, o período de tempo decorrido desde o diagnóstico até ao transplante, a

condição física geral do doente e a resposta à terapêutica são pontos fundamentais a considerar.^{21,33,37,38}

4.1. Fontes de células estaminais hematopoiéticas

Tal como mencionado previamente, as HSCs utilizadas no transplante podem ser provenientes do sangue do cordão umbilical, da MO e do sangue periférico.^{21,31,39}

Estudos recentes têm demonstrado a possibilidade de utilização do tecido adiposo como fonte extramedular de HSCs.³⁹

4.1.1. Células estaminais da medula óssea

A colheita de células estaminais provenientes da MO, enquanto o dador está sob anestesia geral ou local, constitui a primeira fonte de HSCs.^{21,31}

Após o posicionamento do doente ou dador em decúbito ventral (Figura 6), são realizadas múltiplas punções a nível da crista ilíaca posterior^{2,10,18,21,31} da qual é aspirada, com agulhas apropriadas, a quantidade de MO necessária para o transplante, geralmente cerca de 10 ml/kg de peso do recetor.^{31,40} Durante o processo são recolhidos aproximadamente 5 ml de medula, de cada local puncionado. O número mínimo de células nucleadas recomendadas para transplante é de 2.0×10^8 a 4.0×10^8 células CD34⁺, por quilograma de peso do doente.³¹

Outros locais de colheita, como as cristas ilíacas anteriores ou o esterno, podem ser usados, contudo há um risco aumentado de complicações decorrentes da laceração acidental ou perfuração de estruturas anatómicas contíguas.³¹

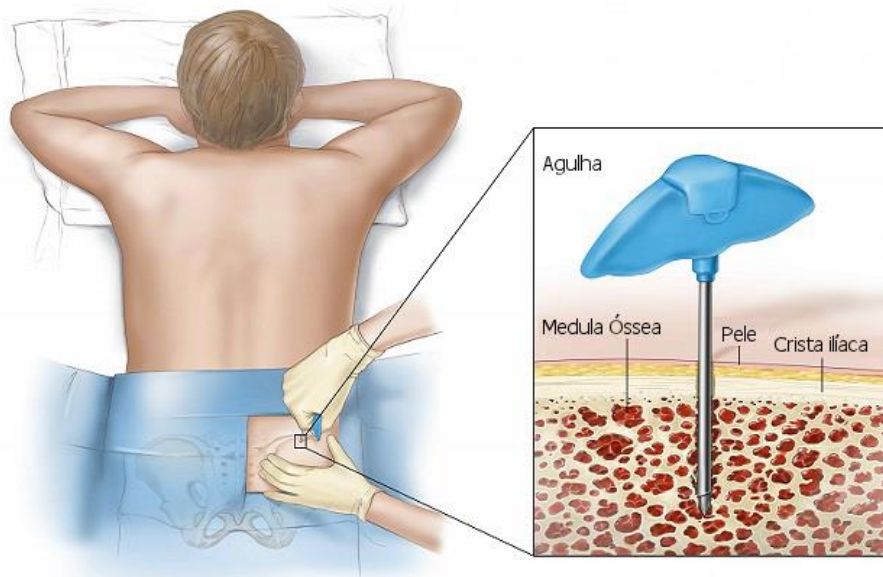


Figura 6: Colheita de células estaminais da MO.¹¹⁰

A anestesia local é aceitável se apenas for necessária uma colheita muito limitada, uma vez que grandes quantidades de Lidocaína são cardiotóxicas e a anestesia local não consegue alcançar o espaço medular.³¹

A cada aspiração, o conteúdo é transferido imediatamente para uma bolsa ou *becker* contendo anticoagulante, meio de cultura e heparina, sendo, posteriormente, filtrado para a remoção de gordura, coágulos, agregados e fragmentos ósseos.⁴⁰ Após esse processo, as células estaminais recolhidas são congeladas, sendo posteriormente descongeladas e administradas ao doente.^{21,40} Ao alcançarem a MO, local do enxerto, as células estaminais iniciam a produção de células sanguíneas. Essa nova produção pode ser avaliada através de análises de sangue obtidas cerca de 2 a 4 semanas após o transplante.²¹

Os riscos deste procedimento são escassos, geralmente associados à anestesia. Graves complicações ocorrem em aproximadamente 0,97% dos doentes, sendo as mais comuns, hemorragias e infecções no local da punção. Hematomas graves e nevralgias ocorrem raramente. A dor localizada é comum, podendo durar vários dias e exigir um breve período de medicação pela combinação de agentes opioides/acetaminofeno.^{2,10,31}

4.1.2. Células estaminais do sangue periférico

As primeiras experiências relacionadas com a colheita de células estaminais do sangue periférico surgiram em doentes com Leucemia mielóide crónica (LMC), uma vez que estes apresentam um elevado número de células clonogénicas circulantes.³¹ Foi durante a década de 80 que a colheita de células do sangue periférico se consagrou, sendo utilizada em mais de 90% dos transplantes autólogos e em cerca de 20% dos transplantes alogénicos.⁴¹

Para que a quantidade de células progenitoras no sangue periférico seja suficiente, é necessário que a sua produção seja estimulada, sendo tal objetivo alcançado através da administração de fatores de crescimento adequados. O fator de crescimento mais utilizado é o fator de crescimento de colónias de granulócitos (G-CSF), administrado por via subcutânea. Esta forma de recolha permite a obtenção de um maior número de células estaminais, sendo recomendado o transplante com um número ótimo de 5.0×10^6 células CD34⁺ por quilograma de peso do doente.^{2,21}

A colheita das células estaminais mobilizadas é alcançada com o auxílio de equipamentos de aférese (Figura 7).^{2,21,36}

O sangue é obtido com o auxílio de um cateter venoso central, ligado a um sistema responsável pelo seu transporte até ao dispositivo de aférese. O dispositivo centrifuga o sangue e as células estaminais são separadas das restantes células sanguíneas, as quais são devolvidas ao doente durante o procedimento.²¹

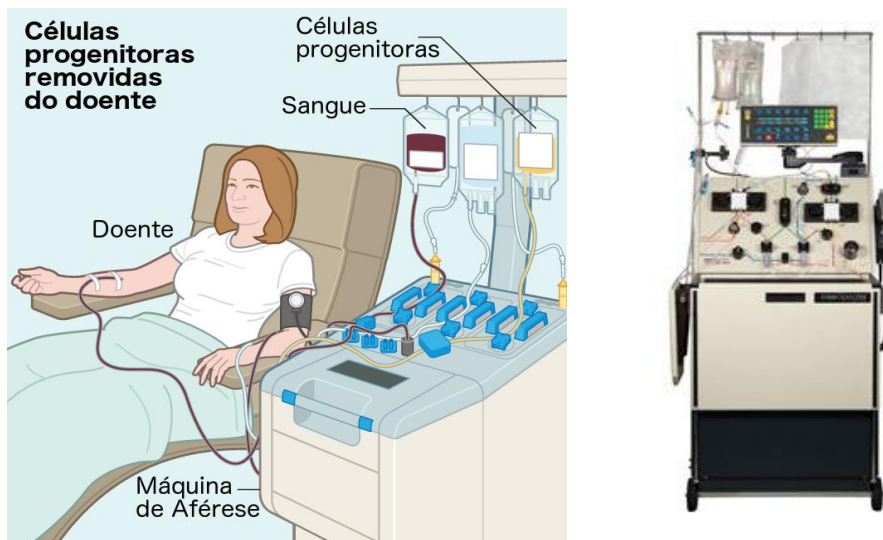


Figura 7: Máquina de aférese responsável pela colheita das células estaminais mobilizadas.¹¹⁰

A aférese das células estaminais pode ser realizada como um procedimento padrão de menor volume, 2 a 3 vezes o volume sanguíneo humano, de acordo com o cálculo do volume sanguíneo de 70 ml/kg de peso, o que iria corresponder a aproximadamente 10-15 L numa pessoa de 70 kg.³⁶

Por outro lado, a leucaférese de maior volume (LVL) envolve o processamento de 3 a 6 vezes o volume de sangue. A LVL pode ser preferida, uma vez que na maioria dos casos conduz a um aumento no rendimento de células CD34⁺ por cada sessão de aférese, tendo em conta a capacidade de mobilização contínua de células estaminais da MO. Contudo, o processamento de grandes volumes de sangue pode estar associado a um aumento dos riscos, incluindo a exposição a maiores quantidades de anticoagulante e a possibilidade de ocorrência de coagulopatia e possível trombocitopenia, devido ao aumento da perda de plaquetas pelo saco colector.³⁶

Os dispositivos utilizados podem ser classificados como dispositivos de fluxo contínuo (ex. *Fenwal CS3000*, *COBE Spectra*, *Fresenius A5104*) ou de fluxo descontínuo (ex. família de equipamentos *Haemonetics*). Os dispositivos descontínuos têm a vantagem de apenas necessitarem de um único acesso venoso, contrariamente aos dispositivos contínuos que

requerem duas linhas de acesso, para aspiração e retorno sanguíneo. Contudo, na recolha de células estaminais por fluxo contínuo é garantido o processamento de maiores volumes de sangue em períodos mais curtos, o que torna o seu uso preferível.³¹

Os dados referentes às técnicas de aférese não são padronizados e, portanto, são insuficientes para definir uma estratégia ótima, universal e rígida.³⁶ Independentemente dos volumes utilizados, a extensão da aférese num período superior a 4 dias raramente é bem-sucedida, sendo importante considerar novas estratégias de remobilização.³⁶

Os efeitos secundários descritos incluem a obstrução ou infeção do catéter utilizado. Durante o procedimento, o doente pode ter problemas relacionados com hipocalcemia devido ao anticoagulante utilizado, referindo tonturas e parestesias, calafrios e câimbras musculares.²¹ A complicação mais grave do processo de leucaférese é a trombocitopenia com uma incidência em cerca de 30% dos doentes.⁴²

4.1.3. Células do sangue do cordão umbilical

A primeira experiência de sucesso relativa à utilização de sangue de cordão umbilical (SCU) como fonte de células estaminais ocorreu em 1988, em França, quando a Dra. Eliane Gluckman, tratou com sucesso um doente portador de anemia de Fanconi, utilizando o SCU de uma irmã HLA idêntica para reconstituir a função medular após QT mieloablativa.⁴³

As células estaminais do cordão umbilical são colhidas logo após o nascimento, sendo criopreservadas nas 48 a 72 horas seguintes, conforme a colheita é efetuada para transplante alogénico ou autólogo.^{21,30}

Antes da criopreservação, a unidade de sangue de cordão umbilical (USCU) é submetida a um processo de concentração celular e redução de volume. São vários os métodos descritos e utilizados, mas o objetivo é comum, concentrar as HSCs no menor

volume possível. Após a redução de volume, é adicionado o criopreservante, dimetilsulfóxido (DMSO), e é efetuada a criopreservação em azoto líquido.⁴⁴

O número mínimo de células nucleadas recomendadas para o transplante é de 3.0×10^7 células CD34⁺ por quilograma de peso do doente, quantidade inferior relativamente às demais fontes de células estaminais.

Tendo em consideração o baixo volume de sangue recolhido do cordão umbilical, a quantidade total de células estaminais obtidas é reduzida, sendo por isso, uma fonte utilizada maioritariamente em crianças ou em adultos de baixo peso. A utilização em adultos requer, habitualmente, o transplante de duas ou três unidades de sangue de cordão.⁴⁵

A qualidade final da USCU está relacionada com a amostra inicial, nomeadamente com a quantidade de células e o volume de sangue de cordão colhido, com fatores obstétricos, tais como o tamanho do cordão, peso do bebé, tipo de parto, e ainda com fatores relacionados com o processamento, tal como o tempo decorrido desde a colheita até à criopreservação, método de processamento e de congelação-descongelação.^{46,47}

5. Transplante autólogo de progenitores hematopoiéticos

Como o próprio nome indica, o TAPH possibilita o recurso a progenitores hematopoiéticos obtidos do próprio doente, para suporte na recuperação hematopoiética após QT de alta dose mieloablativa.^{2,28,30,33,48}

Esta abordagem permite a intensificação da dose de QT em situações nas quais existe uma correlação entre o aumento da dose e a taxa de resposta tumoral, sendo a toxicidade hematopoiética um fator limitante.²⁸ As células estaminais são colhidas, criopreservadas e posteriormente transplantadas após ciclos de QT/RT (condicionamento) que seriam potencialmente letais ou exigiriam um período prolongado de recuperação.^{2,28}

Numa perspetiva geral, o TAPH proporciona uma melhoria no controlo da doença e das taxas de sobrevivência, apresentando em determinadas situações, um carácter potencialmente curativo.^{28,48} A taxa de mortalidade aos 100 dias, que lhe está associada, é inferior a 5%.²⁸

Todo o processo relativo ao TAPH envolve um conjunto de etapas fundamentais, como pode ser visualizado pela análise da figura 8:^{49,50,51}

- 1) Mobilização de células progenitoras hematopoiéticas para o sangue periférico;
- 2) Colheita e criopreservação das células estaminais;
- 3) Regime de condicionamento através de doses elevadas de QT/RT, com o intuito de eliminar as células cancerígenas remanescentes;
- 4) Transplante das HSCs colhidas;
- 5) Fase de enxerto e recuperação hematopoiética (“engraftment”).



Figura 8: Principais etapas do TAPH.⁵¹

5.1. Principais indicações

O TAPH é utilizado rotineiramente no tratamento do mieloma múltiplo (MM)^{2,23,29,36,52}, do LNH^{2,23,29,36,53}, nomeadamente do linfoma difuso de grandes células B e do linfoma de Hodgkin (LH).^{2,23,29,36,54}

Para doentes com MM e LNH quimiossensível recidivante, o TAPH conduz a uma melhoria da sobrevivência livre de doença, bem como da sobrevivência global. Para além disso, os doentes com MM conseguem alcançar taxas mais elevadas de remissão completa, comparativamente ao tratamento com QT isolada.³⁶

Esta abordagem terapêutica é considerada como parte da estratégia inicial de tratamento nos casos de MM, contrariamente ao LNH e ao LH, em que o TAPH representa uma alternativa após recidiva tumoral por insucesso da QT.²

Um número inferior de transplantes é realizado no tratamento de doenças autoimunes e tumores sólidos, como é o caso dos tumores de células germinativas e tumores sólidos da infância, nomeadamente o neuroblastoma ou o sarcoma de Ewing.

As principais indicações para o TAPH encontram-se representadas na figura 9.⁵⁵

O MM é uma neoplasia de células B, caracterizado pela proliferação desregulada e clonal de plasmócitos na MO, de que resulta a produção de uma proteína monoclonal anómala (proteína M) detetada no soro e/ou na urina.^{56,57,58,59} Apresenta uma incidência de 4-5 novos casos por 100,000 indivíduos/ano, o que reflete aproximadamente 60,000 casos na Europa.⁵⁷

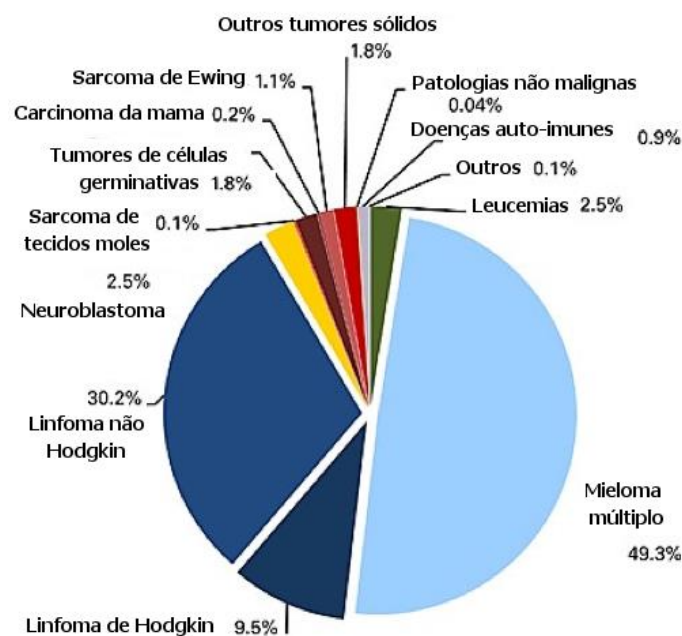


Figura 9: Patologias indicadas para TAPH na Europa em 2013.⁵⁵

A escolha do tratamento inicial está dependente da idade do doente e das comorbilidades. No entanto, a QT de alta dose seguida de TAPH é considerada a terapêutica convencional para doentes com idade inferior a 65-70 anos.^{58,60} A sobrevivência global é semelhante quando o transplante é realizado precocemente (imediatamente após o tratamento de indução) ou tardiamente (na altura da recidiva, como tratamento *salvage*).⁵⁹

Os resultados atuais demonstram que o sucesso pode ser atingido com combinações triplas, como é o caso das combinações BzTDex (bortezomib; talidomida; dexametasona), BzLenDex (bortezomib; lenalidomida; dexametasona) ou BzCycloDex (bortezomib; ciclofosfamida; dexametasona). Assim, mais de 90% dos doentes conseguirá uma boa resposta terapêutica e 1/3 atingirá remissão completa após 3-6 ciclos, resultando numa situação ideal para o TAPH.⁵⁷ Relativamente ao regime de condicionamento o melfalano 200 mg/m² é considerado o fármaco de eleição.^{57,58}

Vários autores têm-se debruçado sobre a eficácia de um segundo autotransplante em comparação com o autotransplante único, concluindo que o mesmo poderá ser vantajoso nos indivíduos que não atingiram uma resposta completa ou resultados parciais satisfatórios com o primeiro procedimento.⁶¹

O LH, uma neoplasia do tecido linfóide proveniente do sistema linfático e sistema retículo endotelial, é caracterizado histologicamente pela presença de células de *Reed-Sternberg*.⁶² A sobrevivência dos doentes diagnosticados com estágio avançado tem vindo a aumentar significativamente. A grande maioria dos doentes com LH limitado podem ser tratados com protocolos de QT de curta duração ou QT seguida de RT da zona envolvida, sendo que aproximadamente 80% apresenta remissão completa com o tratamento inicial de QT.⁶³ Nos casos de doença avançada e com um número aumentado de fatores de prognóstico adversos, a QT com múltiplos fármacos, como o protocolo BEACOPP (bleomicina, etoposide, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazina e prednisona), fornece o melhor equilíbrio de eficácia e minimização da toxicidade.^{8,57,63} Em contrapartida, 10% dos doentes com doença em estágio inicial e 30% com doença avançada são refratários ao tratamento inicial ou apresentam recidiva tumoral.^{57,64} Nestas situações, o TAPH em doentes quimiossensíveis ao regime de condicionamento representa o tratamento a aplicar, tendo demonstrado taxas de sobrevivência livre de doença entre 30% a 65%.^{8,57} Os regimes de

condicionamento utilizados no TAPH para o LH estão dependentes da QT de combinação, sendo a escolha usual uma combinação de 4 fármacos, carmustina, etoposide, citarabina e melfalano, num regime designado por BEAM.^{8,64}

Os LNH englobam um grupo heterogéneo de neoplasias, sendo 85-90% provenientes de linfócitos B, e os restantes 10-15% derivados de linfócitos T ou linfócitos NK (*natural killer*). Este grupo diverso de malignidades desenvolve-se maioritariamente nos gânglios linfáticos, mas pode ocorrer em quase todos os tecidos, variando de uma forma mais indolente (ex.: o linfoma folicular), para variantes mais agressivas, como o linfoma difuso de grandes células B e o linfoma de Burkitt.^{8,57,65}

No tratamento do linfoma folicular, à exceção dos doentes com doença em estágio limitado que podem ser curados com RT, a grande maioria apresenta formas tumorais disseminadas cujo tratamento de primeira linha passa por regimes como o R-CVP/CVP (rituximab ± ciclofosfamida; vincristina; prednisolona) ou CHOP/R-CHOP (rituximab ± ciclofosfamida; doxorubicina; vincristina; prednisolona). O TAPH representa uma opção terapêutica de segunda linha para doentes selecionados, não existindo dados suficientes que apoiem a aplicação do mesmo em linfomas foliculares após a primeira remissão.^{57,65} Anticorpos monoclonais radiomarcados (⁹⁰Y-*ibritumomab tiuxetan*) podem ser usados como parte dos regimes iniciais de tratamento.^{57,65}

Relativamente às formas agressivas, o esquema terapêutico inicial é o regime R-CHOP, administrado em ciclos (3 a 6/8) a cada duas ou três semanas.^{57,65} Contudo, cerca de 30-40% dos doentes apresentam recaída após a QT de primeira linha, sendo o TAPH a opção terapêutica mais eficaz nos casos de recidiva quimiossensível ou doença primariamente refratária.⁶⁵

Os linfomas de células T constituem um grupo heterogéneo de doenças com grande variabilidade no comportamento clínico e no possível desfecho.^{57,65} O maior estudo publicado

nesta área demonstrou uma melhoria na sobrevivência dos doentes submetidos ao TAPH em fases iniciais da doença, contudo é ainda necessário uma maior investigação complementar.^{57,66}

De acordo com a “Sociedade europeia para o transplante de medula óssea e sangue periférico (EBMT)” mais de 10.000 transplantes foram realizados em doentes adultos com tumores sólidos, no período compreendido entre 2005 a 2010.⁵⁷ As indicações mais frequentes recaem para os tumores de células germinativas, tumores da família Ewing, meduloblastoma e cancro da mama.^{2,37,57}

Por outro lado, cerca de 150 transplantes autólogos são realizados a cada ano no tratamento de doenças auto-imunes,^{2,57} com uma maior incidência em patologias como a esclerose múltipla, a esclerose sistémica, a doença de Crohn e o lúpus eritematoso sistémico (LES).⁵⁷ De acordo com as diretrizes de recomendação, o TAPH no contexto da esclerose múltipla deve ser realizado em doentes com recidiva precoce ou refratários à terapêutica inicial e que apresentem uma alta atividade inflamatória, traduzida pela rápida deterioração, apesar do recurso a uma ou mais linhas de tratamento.⁵⁷

A esclerose sistémica é uma patologia rara, autossómica dominante e de origem desconhecida, caracterizada por fibrose cutânea e visceral (pulmonar, gastrointestinal, cardiovascular e renal) secundária à deposição excessiva de colagénio.^{57,67} A forma mais grave desta patologia apresentou melhorias clínicas rápidas e sustentadas após o TAPH, permitindo uma importante regressão da fibrose dérmica, não alcançável com terapêuticas prévias.^{57,68}

No que concerne ao LES, quando na sua forma grave e refratária a terapias imunossupressoras convencionais, o TAPH demonstrou alcançar remissões clínicas sustentadas em cerca de metade dos doentes com alterações imunológicas qualitativas, não observadas com outras formas de terapia.^{57,69}

Apesar do recente progresso no tratamento da doença de Crohn, com base em corticóides, imunossupressores e terapias biológicas, alguns doentes apresentam taxas de insucesso em todas as terapias disponíveis. Numa tentativa de bloquear a evolução da doença vários estudos têm demonstrado o potencial benéfico do TPH como opção terapêutica. A utilização do TAPH pode ser considerada em doentes com doença de Crohn ativa, cuja evolução agressiva e os danos teciduais conduziram a uma redução na expectativa de vida, apesar da terapêutica com imunossupressores e fármacos biológico, e com riscos inaceitáveis para o tratamento cirúrgico.^{57,70}

5.2. Mobilização de células progenitoras hematopoiéticas

Tendo em conta que as HSCs medulares estão continuamente a alcançar a circulação sanguínea, retornando posteriormente para a MO, foi possível reconhecer o sangue periférico como uma fonte celular importante para o transplante hematopoiético.¹⁰ Apesar das células hematopoiéticas maduras serem libertadas fisiologicamente da MO para o sangue periférico, as HSCs (imaturas) são encontradas na circulação numa frequência muito reduzida. Cerca de 0,05% do total de leucócitos circulantes são HSCs e expressam o marcador de superfície CD34⁺.²³

O processo de mobilização das células estaminais, da MO para o sangue, é uma etapa fundamental para a realização do TAPH.^{23,30,42}

Os primeiros agentes identificados com potencial para mobilizar um número significativo de células estaminais, suficiente para suportar a reconstituição hematopoiética, foram as drogas citotóxicas usadas nos ciclos de QT.^{16,36,71} Estas conduzem a uma redução inicial da celularidade da MO, forçando as células estaminais restantes a expandir-se para repovoar a medula.^{16,71} Ao longo dos anos foram utilizados diferentes protocolos de QT na mobilização celular. Os esquemas mais usados atualmente incluem, os regimes DHAP

(dexametasona, cisplatina, citarabina), ESHAP (etoposide, metilprednisolona, cisplatina e citarabina) e ICE (ifosfamida, etoposide e carboplatina). Para além dos protocolos mencionados, poderá ser benéfica a utilização de ciclofosfamida (CY) numa gama variada de doses, uma vez que esta é responsável pela mobilização de um maior número de HSCs, comparativamente a outros agentes de mobilização. As doses mais elevadas, 3-7 g/m², embora associadas a maiores rendimentos celulares, a taxas de insucesso mais baixas e melhorias na cinética do enxerto,^{23,72,73} podem conduzir a uma maior toxicidade, neutropenia febril, necessidade de transfusões, hospitalizações e custos mais elevados.^{23,34,74}

A principal consideração sobre a escolha da QT usada recai sobre as necessidades de tratamento do doente.³¹

Subsequentemente, verificou-se a existência de vários fatores de crescimento hematopoiéticos, nomeadamente citocinas hematopoiéticas, capazes de proceder à expansão e mobilização celulares com o mínimo desconforto para o doente e com reduzida toxicidade.^{16,71}

Atualmente, a mobilização celular é alcançada com recurso a duas abordagens principais, a mobilização com recurso a citocinas ou a quimio-mobilização (QM), QT seguida da administração de citocinas.³⁶

As citocinas hematopoiéticas são responsáveis pela capacidade em ampliar o número de células estaminais, ao mesmo tempo que induzem a proliferação/maturação de precursores mielóides e granulócíticos, o que provoca alterações marcantes no estroma hematopoiético da medula, resultando na mobilização de células estaminais após 4/5 dias.^{16,22} Contrariamente, a QT conduz a estados de mieloablação com posterior recuperação hematopoiética e acumulação de precursores mielóides, sendo a mobilização de células estaminais alcançada 1-2 semanas após o tratamento.¹⁶

Embora haja uma variedade de protocolos, o G-CSF é a citocina mais utilizada, tendo em conta a sua eficácia comparativamente às demais e o seu perfil reduzido de toxicidade.^{10,16,23,30,31,36,48} O G-CSF metionil recombinante (filgrastim), o G-CSF pegfilgrastim e o G-CSF recombinante humano (lenograstim) constituem as soluções disponíveis para uso clínico.^{17,23,74} O G-CSF é geralmente administrado em doses de 10 µg/kg/dia por um período de 4 dias, sendo a recolha das células estaminais mobilizadas realizada a partir do 5º dia, através do processo de aférese.^{16,22,30,31,37} Nos casos de insucesso na mobilização, o que ocorre em cerca de 20% dos doentes,^{24,30} uma das estratégias a considerar é a divisão da dose de G-CSF em 5 µg/kg duas vezes por dia, ou através do aumento para 30 µg/kg/dia.^{30,36,75} Durante o processo de mobilização induzido pelo G-CSF, descrito na figura 10, o número de células progenitoras em circulação aumenta aproximadamente 60 vezes, atingindo valores compreendidos entre 60-100 células CD34⁺/µL.²²

Outro fator de crescimento utilizado na mobilização de células estaminais é o fator de crescimento de colónias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF), o sargramostim. Este conduz à ativação de proteases responsáveis pela degradação do VCAM-1, da osteopontina e da fibronectina, impedindo a adesão do recetor de superfície das células estaminais, o VLA-4, ao estroma da MO.^{16,20,23,76} Comparativamente ao G-CSF, o GM-CSF apresenta resultados menos satisfatórios no que concerne ao número de células estaminais mobilizadas, na facilidade de recuperação hematopoiética pós transplante, na necessidade de transfusões e suporte antibiótico, bem como na ocorrência de episódios febris e hospitalizações.^{23,36,77} Este é usado mais frequentemente em estratégias de remobilização, quer isoladamente, quer em combinação com outras citocinas ou QT, sendo o seu uso raro na Europa.^{36,77}

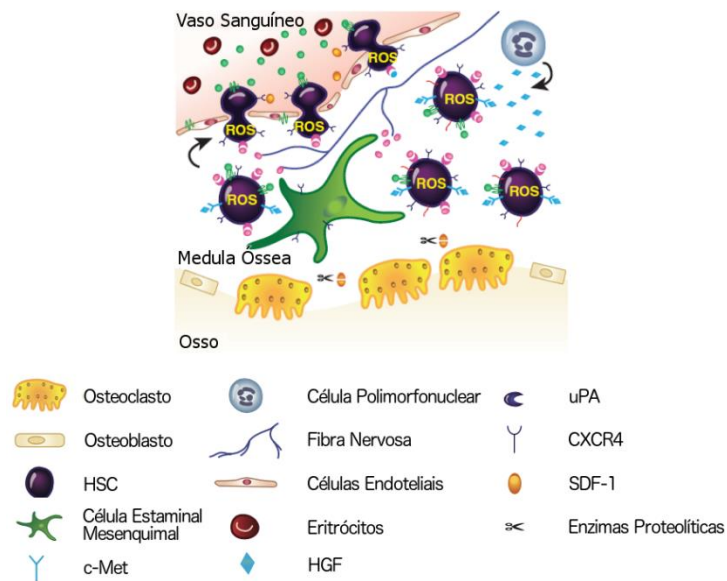


Figura 10: Mobilização de HSCs com G-CSF. – A estimulação repetitiva com o G-CSF induz a mobilização de células estaminais pela ativação de osteoclastos, bloqueio da função dos osteoblastos e das células mesenquimais, seguida da redução do SDF-1 na MO, aumento da disponibilidade do CXCR4, e ativação enzimática proteolítica, conduzindo à proliferação, diferenciação, e mobilização das HSCs para o sangue periférico. O aumento da produção do fator de crescimento dos hepatócitos (HGF) a partir de células polimorfonucleadas resulta na ativação do eixo HGF-c-Met, que por sua vez aumentam a geração de ROS (espécies reativas de oxigênio) intracelular, facilitando a mobilização.¹⁷

Em suma, através de uma análise retrospectiva dos vários estudos realizados na área da mobilização de HSCs, foi comprovada uma maior eficácia na associação de citocinas e QT, comparativamente ao uso isolado de qualquer um dos agentes.^{23,74} No que concerne ao G-CSF, este demonstrou melhores resultados quando administrado imediatamente após a QT de mobilização,^{2,10,30,31,36} conduzindo a uma produção aumentada, 2 a 6 vezes mais, de células CD34⁺ em comparação com o G-CSF isoladamente.^{24,30} Um aumento eficaz no número de células CD34⁺ conduz a um enxerto mais rápido, sendo clinicamente benéfico.³⁰ A mobilização de células estaminais através da associação entre a QT e o G-CSF está associada a taxas de insucesso inferiores a 30%, dependendo da patologia em causa e da terapêutica prévia.³⁰

5.2.1. Novos agentes de mobilização

Durante a última década foram observadas várias alterações no campo do TPH, incluindo a adição de novas técnicas de mobilização, criando assim a necessidade de reavaliar as estratégias já disponíveis.³⁶

Novos agentes de mobilização conduziram a uma redução nas taxas de insucesso obtidas com os agentes tradicionais, contudo o método ideal capaz de maximizar a colheita de células estaminais e minimizar os custos associados ainda não foi determinado.^{2,23,30,36}

5.2.1.1. AMD3100 (Plerixafor)

O AMD3100 (Plerixafor), inibidor específico do CXCR4, é um agente promissor no campo da mobilização de células estaminais.^{36,78} Este inibe, reversivelmente,^{10,30,36} a ligação do CXCR4, um recetor quimiocínico presente nas células CD34⁺ (HSCs), ao SDF-1, mecanismo esse que pode ser observado na figura 11.^{20,22,23,30,48}

O Plerixafor é rapidamente absorvido após uma injeção subcutânea, na dose recomendada de 0,24 mg/kg/dia, fornecendo um aumento sustentado de células CD34⁺ circulantes durante 10 a 18 horas, com um pico máximo entre as 4-9 horas após a administração.^{30,48} Não são necessários ajustes na dose para doentes com insuficiência hepática ou renal, sendo um agente bem tolerado.⁴⁸

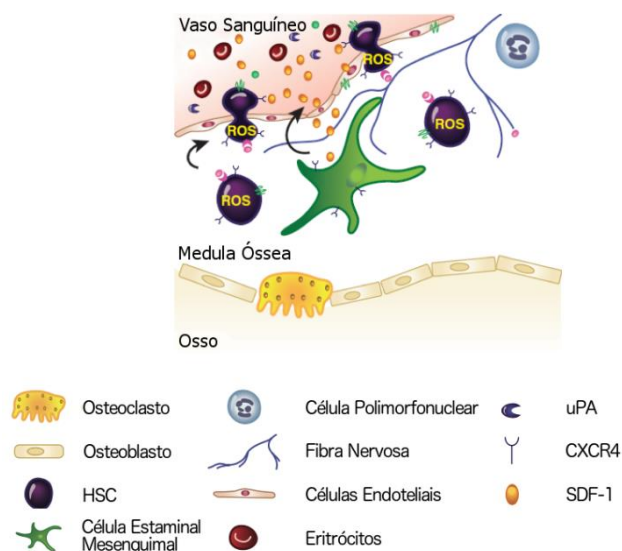


Figura 11: Mobilização de HSCs pelo AMD3100. – A mobilização das células estaminais após estimulação com AMD3100 bloqueia a interação SDF-1/CXCR4. A rápida libertação de SDF-1 para a circulação conduz ao aumento do ativador de plasminogênio tipo urocinase (uPA) e consequentemente a um aumento nos níveis intracelulares de espécies reativas de oxigênio (ROS), que medeiam o recrutamento das HSCs e a rápida mobilização das mesmas, no período de 1 hora.¹⁷

Entre os vários estudos realizados, na área da mobilização, foi possível concluir que o Plerixafor reduz o risco de insucesso associado à mobilização das células estaminais e o risco de falência terapêutica, de 40% para menos de 10%.²³

A ação sinérgica entre o AMD3100 e o G-CSF induz um aumento na mobilização de células CD34⁺, aumento esse 3 vezes superior ao valor alcançado pela ação isolada do G-CSF.^{10,23,30,79} Em doentes com resultados refratários à mobilização com QT ou com G-CSF, a combinação entre o AMD3100 e o G-CSF resultou em taxas de sucesso superiores a 60%.³⁰ O Plerixafor deve ser administrado nas 6-11 horas prévias ao processo de aférese e após 4 dias de pré-tratamento com o G-CSF.⁶⁰

Para além disso, em 91-95% dos doentes com linfoma ou MM, cuja terapêutica prévia com QT e RT de alta dose falhou, a mobilização de células estaminais foi apenas alcançável com recurso ao AMD3100.^{30,80}

Apesar do excelente perfil de segurança e tolerabilidade apresentado pelo Plerixafor,²⁰ o elevado custo associado poderá constituir um fator limitante sendo necessário um protocolo rigoroso, com critérios bem definidos, para uma adequada aplicação.^{20,23,81} Recomendações consensuais sugerem a sua utilização como estratégia preventiva, em situações em que o número alvo necessário de células estaminais é superior ao valor normalmente exigido, sendo esta uma abordagem baseada na monitorização do número de células CD34⁺, e nos casos em que a remobilização é necessária.^{23,36} De acordo com a EBMT se o número de células CD34⁺ no sangue periférico for inferior a 20/ μ L, no dia em que o pico máximo seria esperado, o Plerixafor deve ser administrado previamente ao processo de aférese.^{20,23,60}

A combinação da QT de mobilização, com o Plerixafor e o G-CSF constitui uma estratégia emergente no campo da mobilização, a qual merece uma maior avaliação em futuros estudos prospetivos.^{16,36} A grande maioria dos estudos realizados até à atualidade demonstram elevadas taxas de sucesso na mobilização com a combinação das três modalidades, sendo segura a sua aplicação em doentes com MM ou LNH. Nestas patologias foi identificado um incremento no número de células CD34⁺ mobilizadas, duas vezes superior ao valor normal.³⁶

Atualmente, para além do Plerixafor existem vários e promissores antagonistas CXCR4 em desenvolvimento clínico avançado, incluindo o POL6326, TG-0054, BKT-140 e o LY2510924.^{82,83}

5.2.1.2. Anticorpos anti-VLA-4

Tal como no eixo CXCR4/SDF-1, o VLA-4, expresso pelas HSCs, liga-se ao estroma da MO pela interação com a VCAM-1, a osteopontina e a fibronectina.^{20,22,30} Papayannopoulou e Nakamoto foram dos principais pioneiros no estudo do efeito da interrupção do eixo VLA-4/VCAM-1 na mobilização de HSCs, demonstrando que a

administração de anticorpos anti-VLA-4 (Natalizumab) resulta num aumento de células estaminais circulantes.^{20,82,84} Apesar de ainda não ter sido testado em humanos, o anticorpo demonstrou uma grande capacidade de mobilização celular em ratos e primatas. Uma única administração intravenosa de Natalizumab induziu um aumento sustentado no número de células CD34⁺ circulantes superior a 10×10^6 L, comparativamente às técnicas de mobilização padrão.^{20,30,85}

5.2.1.3. Paratormona (PTH)

Estudos em animais (ratos) demonstraram uma interação direta entre as HSCs e os osteoblastos presentes na MO, estando o aumento da massa óssea associada à expansão celular estaminal.^{24,30} A administração da PTH, responsável pelo aumento dos osteoblastos, tem demonstrado proteger as HSCs da toxicidade associada à QT,³⁰ sendo responsável por induzir um aumento significativo de células progenitoras no sangue periférico (1,5 a 9,8 vezes mais).^{16,20,24} A PTH foi avaliada em estudos de fase 1, em doses crescentes e em combinação com o G-CSF, em doentes que falharam tentativas prévias de mobilização, tendo demonstrado taxas de sucesso de 47% e 40% em doentes que falharam a primeira e a segunda mobilização, respectivamente.^{20,24,30,86} Foi ainda constatado que o pré-tratamento com PTH prolonga a mobilização celular após a administração de G-CSF.^{16,87} Contudo, a eficiência e segurança associadas à PTH requerem validações adicionais.³⁰

5.2.1.4. Eritropoietina (EPO)

A EPO, comumente utilizada para preservar as concentrações de hemoglobina em doentes submetidos a QT, demonstrou ser capaz de potenciar o efeito mobilizador do G-CSF ou do GM-CSF. Em doentes com MM foi possível obter melhores resultados na QT de mobilização através da adição de EPO.^{24,30} No entanto, as suas reais potencialidades na área

da mobilização ainda não foram comprovadas, sendo imprescindível uma nova investigação de modo a determinar os benefícios clínicos da EPO combinada com o G-CSF.²⁴

5.2.1.5. Fator de células estaminais (SCF)

Embora o G-CSF e os seus derivados, como o G-CSF peguilado, constituam o grupo de proteínas recombinantes preferíveis na mobilização celular, têm surgido novos potenciais agentes, como proteínas baseadas em citocinas, fatores de crescimento e hormonas.⁸²

O SCF, ligando C-KIT, é produzido nas células do estroma medular e atua como um potente fator de crescimento hematopoiético. Foi demonstrado que o SCF recombinante humano (Ancestim) quando utilizado em combinação com o G-CSF aumenta o rendimento na mobilização, podendo acelerar a recuperação pós-transplante. Apesar da eficácia comprovada do Ancestim, a sua utilização foi dificultada pela ocorrência de reações anafiláticas graves, apesar de infrequentes, e pela necessidade resultante de monitorizar os doentes após a administração. Foi apenas aprovado no Canadá e na Nova Zelândia.^{24,82,83}

5.2.1.6. Trombopoietina recombinante humana (rhTPO)

De modo semelhante ao SCF, a rhTPO demonstrou ser capaz de atuar sinergicamente com o G-CSF e com a QT, aumentando a mobilização de células estaminais. Contudo, a sua eficácia clínica não foi comprovada.^{24,82}

5.2.1.7. SB-251353

Um dos agentes de mobilização atualmente em investigação é o SB-251353. Este é um análogo da quimiocina CXC Gro- β , responsável por estimular a quimiotaxia e a ativação de neutrófilos através da ligação ao recetor CXCR2.^{20,24,82,83} Em estudos pré-clínicos, o SB-251353 foi responsável pela mobilização de células estaminais 15 minutos após a sua administração.⁸³ Além disso, quando aplicado em combinação com o G-CSF, 1 dia de G-CSF

seguido de uma administração de SB-251353, resultou num acréscimo no número de células estaminais mobilizadas igual ao número alcançado com 4 dias de tratamento com G-CSF isoladamente.^{24,83} No entanto, a maioria dos ensaios foram realizadas em murganhos, sendo necessárias novas pesquisas em seres humanos de forma a determinar a real eficácia, bem como os efeitos secundários deste agente.^{24,82,83}

5.2.1.8. Reaproveitamento farmacológico

O reaproveitamento de fármacos existentes, para novas indicações, apresenta inúmeras vantagens. O desenvolvimento de um fármaco reutilizado é mais rápido e barato, sendo menos provável o insucesso em ensaios clínicos devido à toxicidade. Vários fármacos existentes foram avaliados quanto à capacidade de mobilização de células estaminais, incluindo o fármaco antipsicótico tioridazina, o eltrombopag utilizado no tratamento da trombocitopenia, o teriparatide (rhPTH) indicado na osteoporose e o fármaco para a esclerose múltipla, o natalizumab, descrito anteriormente.⁸² O bortezomib, um inibidor do proteassoma utilizado no tratamento do MM, tem sido relatado como alvo na mobilização quando utilizado isoladamente ou em combinação com o AMD3100 ou o G-CSF.^{82,83}

5.2.1.9. Polissacarídeos naturais e sintéticos

Uma outra abordagem descrita na literatura para a mobilização de células estaminais passa pela utilização de polissacarídeos naturais e sintéticos, incluindo polissacarídeos sulfatados como o fucoidan e ácido colominico sulfatado, betafectina e glicosaminoglicanos modificados. Encontra-se igualmente descrito que um mimético sintético com sulfato de heparina, denominado “EP80031”, mobiliza eficazmente HSCs quando utilizado isoladamente ou combinado com o G-CSF e/ou o AMD 3100.⁸²

A abundância dos agentes descritos na mobilização de células estaminais demonstra a precaridade do equilíbrio entre a retenção medular e a sua mobilização.²² Embora nenhum dos

novos agentes tenha obtido um papel estabelecido na mobilização celular na prática clínica, muitos estudos iniciais dedicados a explorar estas novas abordagens mostraram resultados promissores e justificam uma investigação mais aprofundada.^{22,36,74} Pesquisas laboratoriais são obrigatórias para o desenvolvimento de novos agentes capazes de tornar a mobilização e colheita de HSCs possível para todos os doentes.²⁰

5.2.2. Insucesso na mobilização celular

Uma mobilização eficaz requer a colheita de um número alvo de células estaminais e a adoção de estratégias capazes de minimizar o tempo e o número de sessões de aférese necessárias, reduzindo os custos do procedimento e evitando complicações relacionadas com a mobilização, como a hospitalização por neutropenia febril.^{23,36}

A grande maioria dos doentes atinge a dose alvo de células CD34⁺ após o processamento de 20 a 30 litros de sangue, alcançável com um máximo de três procedimentos de aférese. No entanto, cerca de 5-30% dos doentes apresentam colheitas inadequadas devido ao reduzido número de células estaminais presentes no sangue periférico.⁸⁸ Uma mobilização inicial insuficiente conduz à necessidade de nova mobilização (remobilização), a qual pode influenciar negativamente a progressão da doença, aumentando significativamente a necessidade de outros recursos.^{16,23,34} Aproximadamente 50% dos doentes que não conseguem atingir a dose alvo de células CD34⁺, irão alcançar tal objetivo numa segunda tentativa.^{16,23,88}

Uma estratégia de remobilização aplicada passa pela administração do G-CSF em dose elevada (30 mg/kg/dia), após um período de 2-4 semanas isento de fatores de mobilização, de modo a permitir a recuperação medular.⁸⁸ No entanto, as estratégias de remobilização com recurso a citocinas isoladas são inadequadas. A combinação de fatores de crescimento é menos dispendiosa e igualmente eficaz, comparativamente ao G-CSF de alta dose, embora se encontre associada a uma taxa de insucesso de 82%.^{34,36} Experiências iniciais com o Plerixafor

sugerem a sua eficácia quando associado com o G-CSF em doentes que falharam uma tentativa de mobilização prévia.^{36,88,89,90}

A QT de mobilização tem sido recomendada como opção de remobilização primária em doentes cuja mobilização com o G-CSF isoladamente falhou. Infelizmente, poderá estar associada a um aumento da toxicidade, apresentando uma taxa de insucesso que atinge os 74%.^{34,36,88,90}

A opção tradicional de remobilização passa pela colheita da MO, reservada como abordagem de terceira linha em doentes não selecionados para ensaios clínicos de mobilização e naqueles cujo benefício de um TAPH é suficientemente convincente para superar os potenciais inconvenientes, devido aos custos elevados que lhe estão associados bem como a redução na qualidade de vida do doente.^{36,90}

Tendo em consideração que a probabilidade de insucesso de mobilização é elevada após uma primeira tentativa falhada, uma opção a considerar é o TAPH com uma contagem de células CD34⁺ inferior ao estipulado como valor padrão, 1×10^6 por Kg.⁸⁸ Outra estratégia recai pela colheita profilática de células estaminais do sangue periférico no início do tratamento, nos doentes candidatos a TAPH e que são aconselhados a realizar vários ciclos de QT/RT ou QT envolvendo agentes alquilantes. As células estaminais são colhidas, antes de se proceder a terapias extensivas e enquanto o doente apresenta boa função medular, e criopreservadas possibilitando o seu armazenado durante anos sem perda progressiva do potencial de enxerto.⁸⁸

Tendo em consideração as elevadas taxas de insucesso associadas à remobilização, a principal estratégia passa pela prevenção da mobilização ineficaz.³⁶

A possibilidade de predizer o insucesso da mobilização celular baseada nas características de cada doente, no início do processo de mobilização, é fortemente discutível.^{23,36} A variabilidade na resposta à mobilização é multifatorial e pode envolver uma

ativação/expansão pobre de granulócitos, um menor conteúdo de proteases, bem como uma redução do número de HSCs presentes na medula, quer devido a fatores autónomos às células estaminais ou ao ambiente hematopoiético sub-ótimo presente.¹⁶

Apesar de alguns fatores preditivos do insucesso da mobilização serem aceites unanimemente na literatura, tais como a intensidade da exposição à terapêutica com QT ou RT, a utilização de agentes quimioterapêuticos e o fracasso numa tentativa prévia de mobilização, outros fatores, como a idade do doente, suscitam uma maior controvérsia.^{23,31,33,90} Dependendo do diagnóstico e da terapêutica prévia, 5-40% dos doentes considerados para TAPH apresentam características que os tornam “difíceis de mobilizar”.⁹⁰

Um grupo de pesquisa Italiano, *Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo* (GITMO), propôs recentemente (2012) uma definição para “insucesso na mobilização” em doentes com Linfoma ou MM.^{20,23,60,91} Esta definição surgiu de um consenso entre vários especialistas e considera os fatores descritos na Tabela 1.²³

O conceito de insucesso, comprovado pelo número de células CD34⁺ circulantes após 4-6 dias de mobilização, é de extrema relevância. A disponibilidade de estratégias preventivas permite reduzir os riscos associados às complicações inerentes de um maior número de processos de aférese e à necessidade de remobilização, possibilitando ainda uma redução de custos.^{23,36,60} Esta abordagem tem em consideração a correlação bem estabelecida entre a contagem de células CD34⁺ no sangue periférico pré-aférese e o rendimento da colheita.^{36,60,92}

Infelizmente, a previsão de insucesso com base nas características iniciais do doente é altamente imprecisa. Apesar dos regimes de mobilização serem adaptados de acordo com modelos preditivos de antecipação, possibilitando a identificação de casos destinados ao insucesso, estes não são uniformemente preditivos conduzindo à necessidade de novas estratégias alternativas.³⁶

Tabela 1: Fatores de probabilidade ou evidência de insucesso na mobilização.²³

Fatores de probabilidade	<p>Pelo menos um critério major ou dois critérios <i>minor</i>:</p> <ul style="list-style-type: none">• Critérios <i>major</i>:<ul style="list-style-type: none">○ Insucesso de tentativa prévia de mobilização;○ RT prévia envolvendo grandes áreas que contenham MO;○ Ciclos completos de terapêutica prévia, incluindo melfalano, fludarabina ou outras terapias que afetam a mobilização HSCs tais como carmustina, dacarbazina, cladribina, a lenalidomida, e compostos de platina.• Critérios <i>minor</i>:<ul style="list-style-type: none">○ Pelo menos dois ciclos anteriores de terapia citotóxica;○ Doença refratária;○ Linfoma como fator de risco superior ao mieloma;○ Envolvimento extensivo da MO por células tumorais;○ Celularidade da MO inferior a 30%, na mobilização;○ Baixa contagem de plaquetas;○ Idade superior a 65 anos.
Fatores de evidência	<ul style="list-style-type: none">• Tendo recebido mobilização adequada (doses de G-CSF ≥ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$, se usado isoladamente ou ≥ 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ se após a QT) e apresentando:<ul style="list-style-type: none">○ um pico de células CD34⁺ circulantes < 20 μL nos 4 a 6 dias após a mobilização com G-CSF ou dentro de 20 dias após QT combinada com G-CSF.ou• Colheita de células CD34⁺ num número inferior a $2 \times 10^6/\text{kg}$, por três dias consecutivos de aférese.

Adaptado por Jantunen *et al.*⁹⁰ e Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo.⁹¹

5.3. Colheita de células estaminais hematopoiéticas

No TAPH, o sangue periférico substituiu por completo a MO como fonte de células estaminais.^{2,23,31} A colheita de HSCs do sangue periférico, através da técnica de aférese descrita na secção 4.1.2, evita a necessidade de anestesia geral e o trauma associado à colheita de medula, levando a uma recuperação hematopoiética mais rápida,^{10,30,42} com uma menor morbidade associada, uma redução no número de transfusões de plaquetas e eritrócitos e uma diminuição do período de antibioticoterapia.⁴² Para além disso, a aférese permite a colheita de um maior número de células estaminais, comparativamente à recolha através da MO, conduzindo ao atingimento do enxerto num período mais curto.² A média de tempo para atingir uma contagem absoluta de neutrófilos superior a 500/ μL e a independência na

transusão de plaquetas, após o transplante com células estaminais do sangue periférico, é de aproximadamente 11 a 14 dias.³¹

O dispositivo de aférese apresenta uma eficácia de colheita uniforme. Para uma quantidade consistente de sangue, processado através da máquina de aférese, pode-se estabelecer uma relação direta entre o número de células CD34⁺ colhidas e o valor das mesmas no sangue periférico.⁸⁸

O nível de células CD34⁺ no sangue periférico, a partir do qual se deve iniciar o processo de aférese, é uma decisão clínica. Embora níveis numa gama superior ou igual a 50-100/ μ L reduzam o número de procedimentos de aférese necessários para atingir o valor alvo de células CD34⁺, por cada dia de atraso aumentam os custos associados à administração adicional de citocinas e análises sanguíneas. No entanto, nenhum doente deve ser submetido à colheita de células estaminais se a contagem de células CD34⁺ for inferior a 5/ μ L.⁸⁸

A maioria dos doentes mobilizados com QT obtêm uma contagem crescente de células CD34⁺ no sangue periférico, devendo o processo de aférese ser iniciado no dia em que o nível celular desejável for alcançado. Relativamente a outros agentes de mobilização, nomeadamente o G-CSF, e tendo em consideração que a concentração máxima de células estaminais é atingida ao 5º dia de administração (após 4 doses diárias) o processo de aférese deve ocorrer entre o 4º e 5º dia.^{34,60,88}

A quantidade de células CD34⁺ colhidas pela técnica de aférese atua como um fator preditivo do sucesso do enxerto.^{20,31,36} Quanto mais elevado for esse valor, maior a probabilidade do doente obter uma recuperação rápida da contagem de leucócitos e plaquetas.³¹

De acordo com a “*American Society for Blood and Marrow Transplantation (ASBMT)*” uma colheita de células estaminais numa dose compreendida entre 2,5-5x10⁶ células

CD34⁺/Kg é suficiente para alcançar uma restauração hematopoiética, sendo a dose mínima recomendada de 2×10^6 células CD34⁺/Kg.^{16,20,23,30,36,88,93}

A decisão relativa à continuidade do TAPH, sempre que os valores de células colhidas estiverem entre 1×10^6 e 2×10^6 células CD34⁺/Kg, passa por uma estratégia individualizada considerando as comorbilidades de cada doente.^{23,30,94}

Uma contagem de células CD34⁺ entre $1,5 \times 10^6$ /kg a $2,5 \times 10^6$ /kg conduz a uma recuperação tardia de plaquetas e neutrófilos, e doses inferiores a 1×10^6 /kg têm sido associadas a uma maior necessidade de transfusões de eritrócitos, bem como à perda permanente do enxerto.³⁶

Embora a dose mínima de HSCs esteja bem definida, o valor alvo ideal para a dose máxima desejável ainda não foi estabelecido.²³ Estudos recentes demonstraram que a recolha, e posterior transplante, de células CD34⁺ em valores superiores a 6×10^6 /kg está associada a uma recuperação mais rápida de neutrófilos, uma mediana mais elevada na contagem de plaquetas e a uma recuperação mais rápida, conduzindo a uma melhoria da sobrevivência livre de doença e de sobrevivência global, a uma redução dos recursos necessários e dos custos associados.^{23,36,93}

Apesar do claro benefício associado à colheita de doses superiores de células CD34⁺, relativamente aos valores padrão estipulados, é necessária uma maior investigação nesta área. É fundamental determinar o impacto que a colheita tem na cinética do enxerto, tendo sempre em consideração a dicotomia qualidade vs. quantidade das HSCs colhidas.³⁶

5.3.1. Métodos de preservação das células estaminais

Após a colheita das HSCs pelo processo de aférese, estas são criopreservadas (congeladas) e armazenadas para uso futuro (Figura 12).^{2,58,95,96}

A criopreservação permite o armazenamento profilático das células estaminais para que estas possam ser utilizadas nos meses, ou até anos (10 a 15 anos), após a sua recolha.^{10,42,2,58}

O agente conservante utilizado no congelamento é designado de DMSO.^{21,31,96}

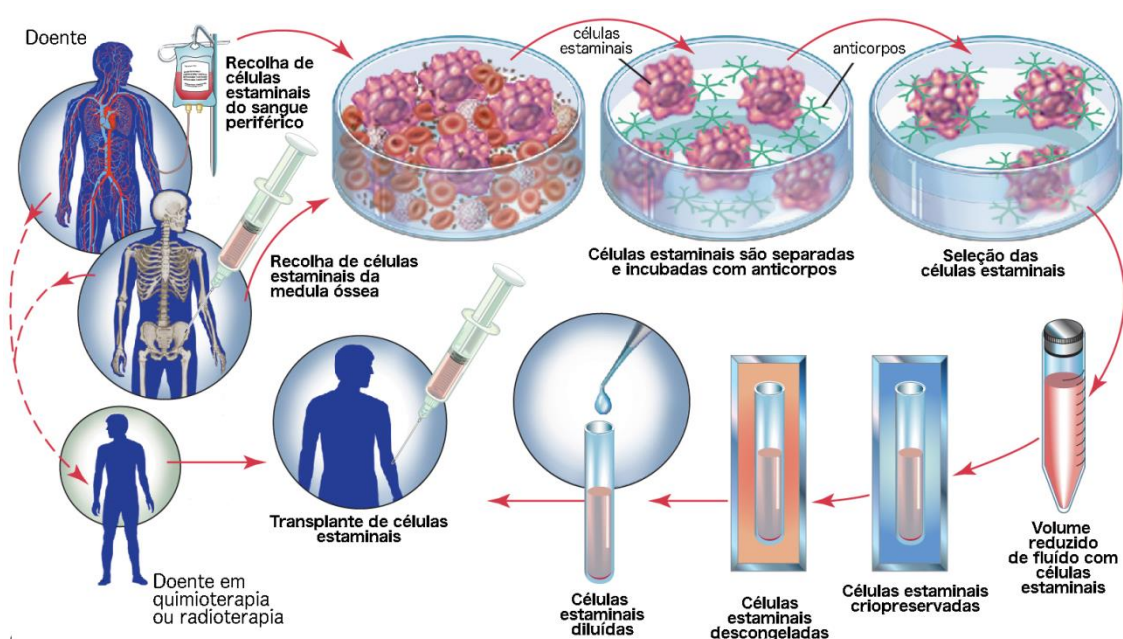


Figura 12: Etapas subsequentes ao processo de colheita das células estaminais até ao transplante.¹¹¹

Na literatura estão descritos dois métodos de criopreservação, a criopreservação por congelamento rápido das células estaminais ou por congelamento lento e progressivo. O congelamento rápido ocorre quando as células estaminais colhidas são diretamente colocadas num congelador a -80°C , sendo a concentração final da solução crioprotetora constituída por 5% de DMSO, 6% de solução de amido hidroxietilamido e 4% de albumina humana em solução salina. No congelamento lento e progressivo, a crescente diminuição da temperatura de congelamento é controlada através de um computador e a solução crioprotetora é constituída por meio de cultura, plasma autólogo e 10% de DMSO.⁴²

A técnica preferencial é a criopreservação por congelamento lento e descongelamento rápido, de modo a evitar os danos mecânicos e a desidratação causada pela formação e crescimento de cristais de gelo.^{31,42, 95,96} A suspensão celular é congelada com base numa taxa de arrefecimento ótima de -1 a -2,5°C/min até atingir uma temperatura tão baixa como -80°C, depois é transferida para um reservatório de azoto líquido, para armazenamento a longo prazo, a temperaturas inferiores a -150°C. Imediatamente antes do transplante, a grande maioria dos produtos celulares crioconservados são descongelados rapidamente, a uma temperatura de 37°C, em banho-maria.^{95,96}

O transplante de produtos descongelados tem sido associado a uma vasta gama de reações adversas, desde eventos leves como náuseas/vômitos, hipo/hipertensão, cólicas abdominais, diarreia, rubor e arrepios, até eventos graves como arritmia cardíaca, encefalopatia, insuficiência renal e depressão respiratória.^{21,58,95,96} Na grande maioria dos casos as reações adversas descritas são diretamente atribuídas ao DMSO,^{21,58,95,96} sendo os restantes decorrentes de fatores adicionais, como a lise de eritrócitos ou a administração de grandes quantidades de granulócitos danificados que não sobreviveram à criopreservação.⁹⁵

Para minimizar tais efeitos adversos muitas instituições optaram por limitar a quantidade total de DMSO utilizada, enquanto outras avaliaram protocolos de lavagem de modo a remover o DMSO e outros produtos celulares danificados, antes de ser efetuado o transplante.⁹⁵

Apesar do DMSO ser amplamente aceite e utilizado para criopreservação, em algumas situações, e tendo em conta os potenciais efeitos adversos, seria desejável utilizar outros agentes alternativos, combinados ou não com o DMSO. Alguns agentes, tais como o etilenoglicol, hidroxicelulose, dissacarídeos sacarose, maltose, trealose e algumas macromoléculas (dextrano, hidroxietilamido, etc.), foram descritos como potenciais

criopreservante alternativos. Contudo, a eficácia, segurança e relação custo-benefício dos mesmos ainda não foi comprovada, sendo uma área de interesse em futuras investigações.^{95,96}

5.4. Condicionamento pré-transplante

Um componente essencial do transplante de células estaminais é o processo de condicionamento (Figura 13), administrado previamente ao mesmo.^{1,71,97,98}

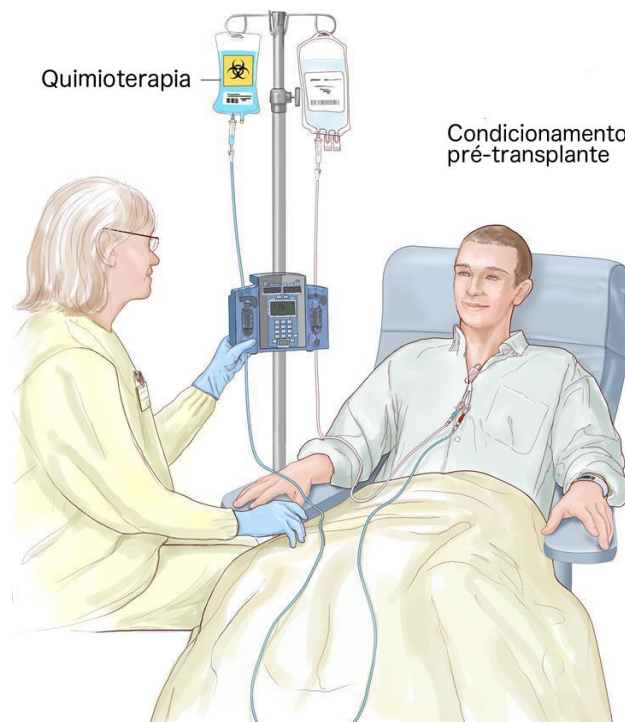


Figura 13: Condicionamento pré-transplante.¹¹¹

O condicionamento pré transplante desempenha diferentes papéis no transplante autólogo e alogénico.^{1,71,98} O principal objetivo no TAPH é a administração de QT citotóxica para o tumor, capaz de erradicar as células neoplásicas existentes, sem qualquer compromisso da toxicidade medular e preservando simultaneamente a função dos órgãos não-hematopoiéticos.^{2,10,18,71}

A intensidade dos regimes de condicionamento pode variar substancialmente, sendo fundamental considerar vários fatores relacionados com a doença, tais como a progressão no

momento do diagnóstico e a probabilidade de remissão, bem como fatores relacionados com o doente, incluindo a idade e a presença de comorbilidades.^{30,97}

Apesar de ainda não ter sido estabelecido um consenso entre a comunidade de transplantes hematopoiéticos, os regimes de condicionamento são normalmente estratificados em 3 categorias: condicionamento mieloablativo (alta-dose); condicionamento de intensidade reduzida (RIC) e condicionamento não-mieloablativo.^{1,97,99} Esta categorização é baseada na duração da citopenia e na necessidade de suporte de células estaminais.⁹⁹ O condicionamento mieloablativo provoca um estado de citopenia irreversível, em que a normal função da medula não é restaurada, sendo necessário suporte de células estaminais através do transplante. Por outro lado, no condicionamento não-mieloablativo a citopenia é mínima,^{71,99} permitindo a recuperação hematopoiética num prazo inferior a 28 dias.⁷¹ Por fim, o RIC não preenche os critérios necessários que o enquadrem numa das categorias anteriores. Este tipo de condicionamento provoca citopenia de duração variável e deve ser administrado com suporte de células estaminais para a reconstituição hematológica.^{71,99}

O regime de condicionamento utilizado no TAPH, também designado por condicionamento mieloablativo, consiste na administração de QT de alta dose e/ou TBI. A escolha da melhor modalidade de condicionamento (Tabela 2) é estabelecida de acordo com diversos fatores, como a idade do doente, a resposta à terapêutica prévia, a patologia em causa e o estado geral do doente.^{2,27,71,97}

Tabela 2: Modalidades de condicionamento no transplante autólogo.⁷¹

Modalidades	Indicações
Ciclofosfamida e TBI (CyTBI)	Leucemia aguda, malignidades linfóides, LMC, síndrome mielodisplásico
Melfalano e TBI	MM
Etoposide (VP16) e TBI	Leucemia linfocítica aguda e leucemias crônicas
Ciclofosfamida, Etoposide e TBI (CyVPTBI)	Leucemias e Linfomas
Busulfano (PO 16mg/kg) e Ciclofosfamida (BuCy2)	Leucemias mielóides, síndrome mielodisplásico
Busulfano (IV, 3.2 mg/kg diário x 4 dias) e Ciclofosfamida (IV BuCy)	Leucemias mielóides, síndrome mielodisplásico
Carmustina, Etoposide, Citarabina, Melfalano (BEAM) ± Rituximab	LNH e LH
Alta dose de Melfalano	MM
Ciclofosfamida, Carmustina, Etoposide (CBV)	LNH e LH

A TBI pode ser prescrita em dose única (dose total de 1 a 8 Gy), dose fracionada (10 a 14 Gy de dose total em 5-6 frações, durante 3 dias) ou "hiper-fracionada" (14-15 Gy de dose total em 10-12 frações durante 4 dias). Baixas doses, tais como 6 Gy, podem diminuir a toxicidade, mas aumentar a probabilidade de insucesso do enxerto e a recidiva da doença. Por outro lado, as doses elevadas (ex.15,75 Gy) apesar de reduzirem a incidência de rejeição e recidiva da doença, estão associadas ao aumento da morbidade e mortalidade.⁹⁸

Presentemente, os regimes de condicionamento para TAPH incluem apenas QT, com uma duração compreendida entre 5 a 10 dias.^{21,27,30,71,97}

Desenvolvimentos recentes na área da biologia conduziram à descoberta de novos agentes com propriedades anticancerígenas. Os anticorpos monoclonais, tal como o CD20, criados para atingir doenças que expressam uma vasta gama de epítomos (determinantes antigénicos), estão a tornar-se parte importante dos regimes preparativos.⁷¹

5.5. Transplante e recuperação hematopoiética

Após o condicionamento mieloablativo, iniciar-se-á o transplante de células estaminais. Tal como descrito previamente, as HSCs colhidas são descongeladas e posteriormente transplantadas por meio de um catéter venoso central (Figura 14).^{21,58}



Figura 14: Transplante de HSCs por cateter venoso central.¹¹¹

O doente deverá ser medicado com um anti-histamínico, um agente antiemético, um antipirético e corticosteroides para mitigar as reações adversas relacionadas com o procedimento.^{58,96} O tempo de transplante varia de 30 minutos a 5 horas, consoante o volume de células a ser administrado.²¹

Durante a fase de neutropenia, subsequente ao transplante e com uma duração aproximada de 5 a 7 dias, há uma diminuição do número absoluto e relativo de neutrófilos circulantes. Esta fase caracteriza-se por uma maior suscetibilidade a infeções, nomeadamente infeções oportunistas.^{21,58}

O tempo que decorre desde o transplante até que se inicie o retorno à normal contagem sanguínea, a fase de enxerto das células estaminais, varia de acordo com o doente e o tipo de

transplante, num período estimado de 2 a 4 semanas. Quanto à recuperação completa da função imunológica esta ocorre mais tardiamente, vários meses após o tratamento.²¹

O doente encontra-se apto para a alta no caso de reunir as seguintes condições:^{21,58}

- ° Apirético há, pelo menos, 48 horas;
- ° Capaz de tomar e manter os fármacos no organismo por um período superior a 48 horas, para que estes sejam absorvidos;
- ° Náuseas, vômitos e diarreia controláveis com fármacos apropriados;
- ° Contagem de neutrófilos de pelo menos 500 a 1000/mm³ (1º dia de 3 dias consecutivos);
- ° Hematócrito de pelo menos 25% a 30%;
- ° Contagem de plaquetas de pelo menos 15,000 a 20,000/mm³ (1º dia de 3 dias consecutivos).

Após a alta, são realizadas análises sanguíneas regulares, ajustadas a cada doente em particular, embora mais frequentes em casos de recuperação tardia do nível de plaquetas, o que pode requerer transfusões adicionais.⁵⁸

5.6. Complicações associadas

A QT de alta dose utilizada no HSCT está associada ao aumento do risco de toxicidade a curto e longo prazo, induzida diretamente pelo tratamento e secundariamente pela imunodeficiência prolongada e pelo longo processo de recuperação.^{2,21,100,101} As principais complicações incluem a lesão de órgãos e o risco acrescido de infeções e hemorragias associadas ao estado de aplasia medular.^{2,21} O aparecimento de mucosite, náuseas, vômitos, disfagia, cefaleias, febre e dificuldade respiratória, constituem problemas comuns no período pós-transplante.^{21,98,101} Contudo, o estado de neutropenia prolongada, as infeções

consequentes, bem como o aumento do risco de anemia e hemorragias estão associadas ao incremento das taxas de morbidade e mortalidade no período pós transplante.

Investigações relativas ao potencial benefício da administração de G-CSF após o transplante, demonstraram o efeito deste no encurtamento do tempo de enxerto e consequente redução das complicações resultantes do estado prolongado de neutropenia. No entanto, a sua administração ainda não é consensual.¹⁰²

Para uma melhor compreensão, as complicações decorrentes do TAPH podem ser agrupadas em três grupos distintos, que incluem: infecções, complicações precoces não-infecciosas e complicações tardias não-infecciosas, tal como descrito na tabela 3.¹⁰⁰

Tabela 3: Complicações major do TAPH.¹⁰⁰

Complicações	
Infeções	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Bacterianas</u>: bactérias gram-negativas e gram-positivas. • <u>Virais</u>: Citomegalovírus; <i>Herpes vírus simplex</i>; Vírus varicela-zoster; Vírus respiratórios. • <u>Fúngicas</u>: <i>Candida</i>; <i>Aspergillus</i>; <i>Pneumocystis jiroveci</i>. • <u>Outras</u>: <i>Toxoplasma gondii</i>.
Complicações precoces não-infecciosas (0-3 meses)	<ul style="list-style-type: none"> • Mucosite. • Cistite hemorrágica. • Doença veno-oclusiva. • Pneumonites. • Hemorragia alveolar. • Falência do enxerto. • Reações medicamentosas adversas.
Complicações tardias não-infecciosas (> 3 meses)	<ul style="list-style-type: none"> • Efeitos tardios órgão-específicos: cataratas; hipotireoidismo; esterilidade/hipogonadismo; distúrbios do crescimento; osteoporose/necrose avascular. • Recidiva tumoral. • Carcinomas secundários.

5.6.1. Infecções

As infecções constituem uma das principais causas de mortalidade e morbidade significativa associadas ao transplante, tanto no período precoce, como tardio após o mesmo.^{100,103}

Os principais fatores de risco estão relacionados com o grau de neutropenia, as comorbidades do doente, a rutura de barreiras anatómicas (mucosite e cateteres permanentes) e a terapêutica imunossupressora.^{100,103}

Os defeitos imunológicos que ocorrem no período após o transplante podem ser divididos em três fases previsíveis, com base no tempo entre o pré e pós enxerto (contagem absoluta de neutrófilos $>500/\mu\text{L}$), e nas quais é objetivável uma predominância específica de agentes patogénicos (Figura 15).^{100,103}

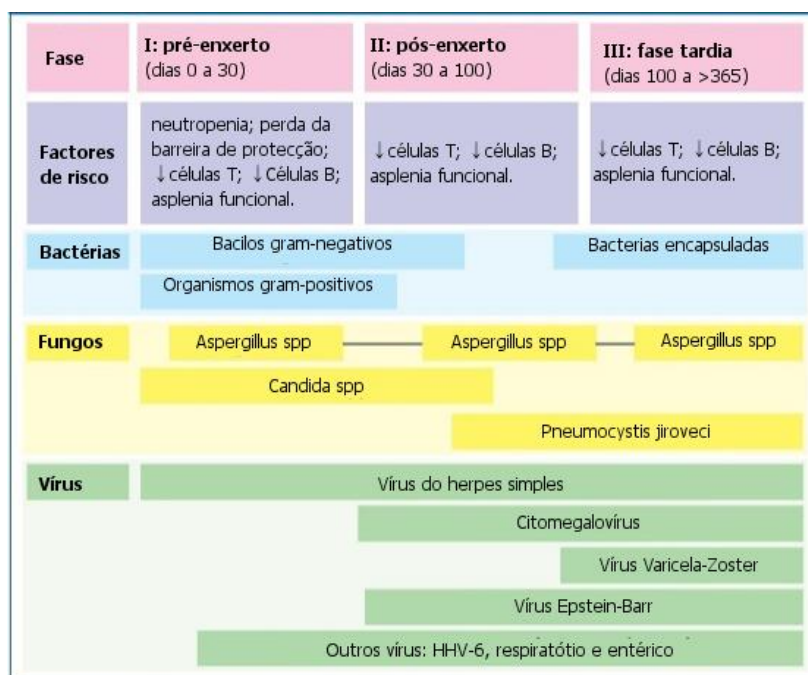


Figura 15: Infecções comuns no TAPH.¹⁰³

A fase precoce ou de neutropenia (dia 0 ao 30) abrange o período decorrido desde o tratamento de condicionamento até ao início do enxerto das células estaminais. Os principais

agentes patogénicos observados são as bactérias gram-positivas e negativas, a *Candida spp.* e o *herpes vírus simplex* (HVS), associados a infeções bacterianas/sépsis, pneumonia, orofaringites, sinusite, proctites e celulite. As infeções bacterianas ocorrem em até 30% dos recetores de transplante, sendo a sua grande maioria associada à normal flora da pele (*staphylococcus* coagulase-negativa), da orofaringe e do trato gastrointestinal (*streptococcus viridans*, *enterococcus spp.* e bacilos gram-negativos entéricos).^{21,100,103}

Neste período, há também um aumento da proliferação de leveduras ou bolores colonizadores, devido à neutropenia e perturbação da flora hospedeira normal, conduzindo a infeções micóticas sistémicas (*candida spp.* ou *aspergillus spp.*) em 10% a 15% dos doentes.¹⁰⁰

A terapêutica empírica com antibióticos de largo espectro é iniciada, na maioria dos casos, no princípio da neutropenia febril, juntamente com a avaliação clínica e microbiológica apropriada.¹⁰⁰

No contexto do TAPH, o risco de infeções oportunistas tardias diminui significativamente após a recuperação da contagem de neutrófilos.^{100,103}

A fase intermédia (dias 30 a 100 após o transplante) inicia-se a partir do enxerto medular. A neutropenia e a mucosite são praticamente inexistentes. No entanto, a imunodeficiência e a asplenia funcional persistem, criando condições para o aparecimento de infeções virais e fúngicas.¹⁰³ O *citomegalovírus* (CMV), o adenovírus, o poliomavírus, os vírus respiratórios, o *pneumocystis jiroveci* (Pj), a *Candida spp.* e o *Aspergillus spp.* são os principais agentes implicados.^{100,103}

Apesar da introdução de terapias antivirais eficazes, as infeções por CMV representam uma das principais causas de morbidade e mortalidade (no grupo das infeções),^{100,103} ocorrendo em menos de 5% dos casos.¹⁰⁰ Embora os recetores autólogos de HSCs tenham um menor risco de desenvolver infeção por CMV, a gravidade da mesma é semelhante à

observada em recetores de transplante alogénico. A infeção pelo agente conduz, na maioria dos casos, a pneumonia e enterite, sendo a causa mais comum de pneumonite intersticial (até 50% dos casos).^{100,103} Os efeitos indiretos incluem um aumento do risco de rejeição do enxerto e superinfeção bacteriana e fúngica.¹⁰⁰ A identificação da atividade do CMV é obtida através de testes de reação em cadeia de polimerase (PCR) ou antigenémia do vírus, obtendo-se resultados positivos precocemente, o que permite a administração de ganciclovir por aproximadamente 14 dias ou, em caso de resistência/intolerância, o foscarnet, como terapêutica preventiva.¹⁰⁰

Relativamente às infeções fúngicas invasivas, estas constituem uma das principais causas de mortalidade, sendo a grande maioria por leveduras (*Candida spp.*) ou fungos (*Aspergillus spp.*).¹⁰⁰

Ao longo de vários anos, a *candida albicans* foi considerada o principal agente implicado nas infeções fúngicas, contudo o uso generalizado de terapêutica profilática com fármacos azol, no período inicial do transplante, conduziu ao aparecimento de uma variedade de espécies não-albicans, como *candida tropicalis*, *candida krusei* e *candida glabrata*.¹⁰⁰ As manifestações clínicas podem variar desde infeções mucocutâneas localizadas a infeções disseminadas profundas. As candidíases orais e esofágicas ocorrem frequentemente no período pós-transplante inicial e devem ser tratadas agressivamente, uma vez que constituem portas de entrada para infeções sistémicas subsequentes. A candidíase hepato-esplénica é a manifestação mais comum de candidíase disseminada, contudo o seu aparecimento é cada vez mais raro devido ao uso de azóis e equinocandinas.¹⁰⁰ A profilaxia com fluconazol é recomendada nos períodos pré e pós-enxerto imediato, reduzindo a incidência de infeções invasivas por *candida spp* de 30% a menos de 10%. Sendo a *candida krusei* e *c. glabrata* intrinsecamente resistentes ao fluconazol devem ser tratadas com anfotericina.^{100,103}

A profilaxia do Pj constitui uma prática clínica obrigatória no TAPH. Devem ser administradas 3 doses semanais de sulfametoxazol e trimetropin, até que se obtenha uma contagem de células T CD4⁺ superior a 200-400 x10⁶/L.¹⁰³

As complicações na fase tardia pós-transplante (>100 dias) ocorrem frequentemente associadas ao transplante alogénico, decorrente da doença do enxerto contra hospedeiro (GVHD), sendo um acontecimento excepcional no TAPH.¹⁰³

5.6.2. Complicações precoces não-infecciosas

A QT de alta dose e os ciclos de radiação são utilizados previamente ao transplante pelos seus efeitos antineoplásicos e imunossupressores. No entanto, estes tratamentos podem danificar o tecido do hospedeiro, resultando em morbidade significativa. As complicações precoces associadas ao HCT podem simular, frequentemente, infeções ou resultarem de um agravamento das mesmas. Além disso, tendo em consideração que a reparação do tecido epitelial pode sofrer um atraso significativo, devido à presença de neutropenia e à infeção microinvasiva local, com conseqüente atraso no funcionamento do enxerto hematopoiético, os estados de toxicidade podem ser prolongados ou exacerbados.¹⁰⁰

A curto prazo, a mucosite (Figura 16) representa a complicação mais comum do condicionamento mieloablativo,^{10,21,102} exigindo o recurso a nutrição parentérica total, administração de analgésicos opioides e hospitalizações prolongadas, o que aumenta o risco de infeções.¹⁰² Na mucosite orofaríngea, quando a região supraglótica é afetada, pode ser necessário recorrer à intubação do doente.¹⁰ A possível intervenção na prevenção de mucosite requer uma abordagem multidisciplinar, através da realização de exames orais/odontológicos pré-transplante, de modo a diminuir a carga infecciosa e inflamatória oral, minimizando a necessidade de procedimentos odontológicos invasivos na fase de reconstituição imunológica. O doente deve proceder a gargarejos suaves (ex. água, solução salina ou bicarbonato de sódio)

com o intuito de remover os detritos e manter os tecidos orais húmidos.¹⁰² Uma abordagem biológica destinada a prevenir a mucosite passa pela utilização do fator de crescimento recombinante de queratinócitos (KGF, palifermina, Kepivance[®]).^{10,102,104} A eficácia da profilaxia com palifermina intravenosa foi demonstrada num ensaio clínico multicêntrico de 212 doentes com patologias malignas hematológicas e submetidos ao TAPH.¹⁰² Comparativamente ao grupo placebo, o risco de desenvolvimento de mucosite grave diminuiu significativamente nos doentes medicados com palifermina (98% vs. 63%), sendo a duração da mesma, quando presente, mais curta (9 vs. 6 dias).^{102,104} Os benefícios apresentados foram ainda associados a uma menor necessidade de recurso a analgésicos opioides, no controlo da dor, bem como o recurso a suporte nutricional parentérico total.¹⁰²



Figura 16: Mucosite oral após transplante de células estaminais.¹⁰²

A lesão do endotélio vascular constitui o evento inicial desencadeante de um conjunto de complicações, com critérios diagnósticos imprecisos e características clínicas sobrepostas, observadas nos primeiros 30-60 dias após o transplante.¹⁰¹ Deste conjunto, é importante destacar a síndrome de obstrução sinusoidal (SOS), a síndrome de hiperpermeabilidade capilar (SHC), a hemorragia alveolar difusa e a microangiopatia trombótica (TMA).¹⁰¹

A SOS, também conhecida por doença veno-oclusiva hepática (VOD), é uma doença hepática grave, potencialmente fatal, caracterizada por hepatomegalia dolorosa, icterícia, retenção de líquidos e ascite.^{10,100,101} Quando em estádios mais avançados, pode conduzir ao agravamento da sintomatologia descrita, encefalopatia, insuficiência renal, pulmonar e multi-orgânica.^{100,101} A incidência associada ao TAPH é de aproximadamente 3%, de acordo com estudos clínicos prospectivos.¹⁰¹ A SOS decorre de uma lesão das células endoteliais sinusoidais, causando obstrução da circulação hepática, por obstrução de sinusoides hepáticos e vénulas, e lesão dos hepatócitos centrolobulares.^{10,100} Os fatores de risco associados ao seu desenvolvimento incluem história de hepatite pré-transplante ou lesão hepática, esquemas preparativos intensos, aumento da dose de TBI e de busulfano.^{10,100,101}

A limitada compreensão da fisiologia celular e microvascular da SOS tem atrasado o desenvolvimento de abordagens mais racionais no que concerne à prevenção e tratamento da mesma.^{10,100} As possíveis abordagens incluem a terapia preventiva com baixas doses de heparina, prostaglandina E, pentoxifilina (bloqueador do TNF- α) ou ursodiol, embora nenhum tenha demonstrado total eficácia. O ativador de plasminogênio tecidual recombinante tem sido utilizado, com sucesso, no tratamento do SOS estabelecido. Além disso, experiências com o defibrotide, um polirribonucleotídeo de cadeia simples com propriedades fibrinolíticas, antitrombóticas e anti-isquêmicas, têm demonstrado resultados favoráveis em cerca de 30 a 40% dos doentes com SOS grave, resultando na resolução completa da patologia e melhoria da sobrevivência.¹⁰⁰

Relativamente à SHC esta decorre de uma lesão do endotélio capilar (provavelmente causada por citocinas e VEGF), com perda de fluídos intravasculares para o espaço intersticial. Surge maioritariamente nos primeiros 15 dias após o transplante, sendo acompanhada de aumento ponderal, superior a 3% em 24 horas, e síndromes edematosos generalizados (ex. ascite, derrame pleural ou pericardite) que caracteristicamente não

respondem ao tratamento com furosemida. Os principais fatores de risco estão relacionados com o uso do G-CSF, GM-CSF ou as altas doses cumulativas de QT na fase pré-transplante. O tratamento recai, inevitavelmente, por retirar os fatores de crescimento. Em alguns casos, tem sido utilizado, com sucesso, o bevacizumab (anti-VEGF) e imunoglobulinas intravenosas.¹⁰¹

A hemorragia alveolar é uma síndrome clínica de início agudo caracterizada pela presença de infiltrados pulmonares e hipoxemia.^{100,101} Quando decorrente de causas não infecciosas, é denominada de hemorragia alveolar difusa, apresentando uma incidência de 2% a 5% em doentes autólogos. A distinção relativamente à hemorragia pulmonar associada a infecção é muitas vezes difícil, especialmente no período inicial pós-transplante.¹⁰⁰ Embora a patogênese não esteja totalmente esclarecida, é provável que esta síndrome decorra da interação entre uma variedade de fatores, como a lesão alveolar, subsequente à radiação e QT utilizadas na fase de condicionamento, os danos inflamatórios causados por neutrófilos e citocinas e as infecções subjacentes.^{100,101} A grande maioria dos doentes desenvolve insuficiência respiratória grave com taxas de mortalidade superiores a 70%.^{100,101} O tratamento inclui a correção da coagulopatia e suporte ventilatório agressivo. Os corticosteroides em altas doses, nomeadamente a metilprednisolona, têm sido utilizados, embora a sua eficácia não esteja claramente comprovada.^{100,101}

Por fim, a incidência da TMA no TAPH é inferior a 4%. Esta patologia desenvolve-se geralmente por volta do 60º dia, sendo caracterizada por anemia hemolítica microangiopática (anemia com mais de 2-4% de glóbulos vermelhos fragmentados), valores elevados de LDH, trombocitopenia, disfunção renal e/ou anormalidades neurológicas, tais como cegueira cortical e convulsões.¹⁰¹

O insucesso no estabelecimento do enxerto hematológico (insucesso primário do enxerto) e a perda do enxerto estabelecido (insucesso tardio) são complicações graves

associadas ao TAPH. Foram descritos casos de insucesso tardio após o transplante de HSCs derivadas do sangue periférico, embora com taxas inferiores a 5%.¹⁰⁰ A probabilidade de ocorrência de um enxerto ineficaz aumenta sempre que o número de HSCs a ser transplantado não é suficiente. Como mencionado, são necessárias aproximadamente 2×10^4 células formadoras de colônias por kg de peso do doente para que o enxerto autólogo seja estabelecido, objetivo esse alcançado pela administração de aproximadamente 1×10^8 células mononucleares medulares/kg.¹⁰⁰

A utilização pós transplante do G-CSF recombinante ou GM-CSF, demonstrou ser eficaz na redução da probabilidade de insucesso do enxerto. A recuperação da mielopoiese pode ser observada em 50% a 60% dos doentes com má função de enxerto, 14 a 21 dias após o início da terapêutica com fator de crescimento, no entanto é prioritário um maior número de estudos complementares.¹⁰⁰

Relativamente à pneumonite intersticial, embora comum no transplante alogênico, é notavelmente menos frequente após o autoenxerto, sendo resultante da infecção por CMV e *Aspergillus*.¹⁰⁰ O quadro clínico associado caracteriza-se por inflamação intersticial difusa, não bacteriana, acompanhada de hipoxemia, dispneia e tosse não produtiva, por vezes com febre.

Por outro lado, a pneumonia intersticial idiopática surge como consequência de lesão pulmonar não infecciosa, 2 a 7 semanas após o TAPH,^{100,101} caracterizando-se pelo desenvolvimento de febre e tosse não produtiva, taquipneia, hipoxemia, e infiltrados alveolares ou intersticiais difusos, observados na radiografia ou TC (tomografia computadorizada).¹⁰¹ Os fatores de risco conhecidos incluem a idade avançada do doente, a QT pré-transplante, altas doses de CY, TBI, transfusões de sangue e administração de metotrexato.¹⁰⁰ A terapêutica eficaz ainda não foi estabelecida, embora sejam utilizados, frequentemente, corticosteroides em altas doses.^{100,101} Foi relatado que o etanercept, uma

proteína de ligação ao TNF- α , melhora a função pulmonar em doentes com pneumonite intersticial idiopática, quando administrado antes da necessidade de ventilação mecânica, estando a sua viabilidade a ser avaliada em ensaios clínicos.¹⁰⁰

5.6.3. Complicações tardias não-infecciosas

Ao longo dos anos tem-se assistido a uma melhoria nas técnicas de transplante, bem como nos cuidados de suporte ao doente, o que conduziu a um crescente número de sobreviventes, ativos e saudáveis.^{10,100} Entre os recetores de HSCs que permanecem livres de doença durante 2 a 5 anos após o transplante, a probabilidade de sobrevivência a longo prazo, 10 a 20 anos, é superior a 80%.¹⁰⁰ No entanto, o risco de complicações tardias associadas ao transplante permanece.^{10,21,100}

A disfunção de órgão, recidiva tumoral, neoplasias secundárias, infeções decorrentes da imunodeficiência contínua, e alterações funcionais e na qualidade de vida, constituem complicações possíveis a longo prazo.^{21,100}

A exposição à QT e à radiação como parte do tratamento inicial do transtorno hematológico subjacente ou como parte do regime de condicionamento, bem como a idade e o sexo do doente, o estilo de vida e as co-morbilidades preexistentes, podem contribuir para as complicações específicas de órgão.¹⁰⁰ As cataratas são referidas como uma complicação resultante da terapêutica com TBI, durante o período de condicionamento,⁸ ocorrendo em mais de 1/3 dos doentes 5 anos após o transplante.¹⁰⁰ Dependendo do grau de compromisso da acuidade visual, a substituição da lente pode ser realizada com excelentes resultados.⁸ O hipotireoidismo é descrito em 50% dos casos e o hipogonadismo ocorre em 90% dos sobreviventes do HSCT.¹⁰⁰ A maioria dos sobreviventes tornam-se permanentemente estéreis,¹⁰⁰ sendo que grande parte das mulheres não conseguem ovular depois de serem submetidas a transplante de células estaminais.¹⁰ A supressão hormonal dos ovários, realizada

antes do período de condicionamento, pode permitir a recuperação da ovulação após o transplante.^{10,21,105} Além disso, algumas mulheres conseguiram engravidar através de embriões ou ovócitos criopreservados.^{10,21} Os doentes jovens do sexo masculino podem recuperar a fertilidade após o transplante, sendo no entanto recomendada a criopreservação de sémen para posterior utilização.^{10,21,100} Nas situações em que o esperma seja de inferior qualidade, pode recorrer-se a fertilização in vitro com injeção intracitoplasmática.^{10,106} Até 50% das crianças submetidas a HSCT podem desenvolver atrasos no crescimento. Relativamente às complicações músculo-esqueléticas, incluindo osteoporose e necrose avascular, estas podem ser particularmente debilitantes.¹⁰⁰

As neoplasias secundárias representam uma complicação rara, mas devastadora, do transplante hematopoiético, sendo responsáveis por 5% a 10% dos óbitos ocorridos 2 anos após o transplante.¹⁰⁰ A síndrome mielodisplásica secundária (SMD) e a leucemia mielóide aguda (LMA) podem ser observadas em 5% a 15% dos recetores autólogos de células estaminais,^{8,10,100,107} após um período de latência de 2 a 5 anos.¹⁰⁰ Para além disso alguns estudos sugerem que a utilização de células estaminais do sangue periférico, em detrimento da colheita da MO, aumenta a incidência do síndrome mielodisplásico,⁸ sendo as taxas de sobrevivência a longo prazo inferiores a 20%.¹⁰⁰ Por outro lado, os carcinomas sólidos secundários, com um período de latência associado de 3 a 5 anos,^{10,21,71,100} são mais comuns em doentes cujo condicionamento utilizado foi a TBI.⁷¹ A incidência cumulativa varia de 1% a 2% aos 5 anos, 2% a 6% aos 10 anos e 4% a 15% aos 15 anos pós-transplante.¹⁰⁰

A ocorrência de tumores da cabeça e pescoço, da tiroide, do fígado, do osso, da cavidade oral e do tecido conjuntivo, tem vindo a aumentar.^{71,100} O rastreio de carcinomas por tempo indefinido é recomendado para todos os sobreviventes, de acordo com as diretrizes estabelecidas.^{10,100,108}

A identificação dos potenciais fatores de risco associados a complicações específicas possibilita a elaboração de esquemas de apoio dirigidos, capazes de reduzir as taxas de morbidade e mortalidade que acompanham o transplante.¹⁰⁰

5.7. Limitações do transplante autólogo

Uma desvantagem associada ao TAPH reside na possibilidade das células tumorais serem colhidas juntamente com as HSCs, e, por conseguinte, readministradas ao doente. Outra desvantagem está associada ao facto do sistema imunológico do doente ser tão débil no pós-transplante como era previamente ao mesmo, o que poderá permitir uma nova proliferação das células tumorais.²¹

Apesar do sucesso associado ao TAPH, a recidiva da doença permanece como um fator prognóstico extremamente desfavorável.^{8,21} Para contornar a sua ocorrência, alguns centros têm procedido ao tratamento das células estaminais colhidas, antes da administração no doente, de forma a eliminar as células tumorais remanescentes, num procedimento designado de “*purging*”.^{21,109} A técnica inclui a incubação com fármacos quimioterapêuticos, tais como a 4-hidroperoxiciclofosfamida (4-HC), agentes fotossensibilizantes e oligonucleotídeos antisense. Alternativamente, os anticorpos monoclonais dirigidos contra o tumor (MAb) podem ser utilizados para identificar as células e efetuar a sua remoção.¹⁰⁹

No entanto, a viabilidade da técnica não está completamente estabelecida, não tendo sido comprovada a capacidade de redução do risco de recidiva tumoral. Para além disso, algumas células estaminais podem ser eliminadas durante o processo, o que acarreta um aumento do risco de infeções e hemorragias, uma vez que a produção de células sanguíneas será mais demorada e os níveis de leucócitos e plaquetas serão muito baixos.^{21,109}

Outra alternativa utilizada, para eliminar as células tumorais, passa pela administração de fármacos “anti-cancro” após o transplante, através de um procedimento designado de “*in*

vivo purging”. O Rituximab (Rituxan[®]), um anticorpo monoclonal utilizado em determinados linfomas e leucemias, e a lenalidomida (Revlimid[®]), aplicada nos casos de MM, constituem os fármacos de escolha.²¹

A maioria dos ensaios de fase II que recorreram a técnicas de “*purging*” demonstraram uma diminuição no número de células malignas, no entanto constatou-se um atraso no estabelecimento do enxerto, sendo discutível a sua real aplicabilidade.⁸

6. Conclusão e orientações futuras

Cinquenta anos decorreram desde as primeiras experiências em murganhos que conduziram à descoberta do TPH como principal método de tratamento num variado grupo de patologias,⁶ representando atualmente a única possibilidade de cura para muitas delas.¹⁰

A recente investigação científica na área do TAPH, tem conduzido a melhorias consideráveis nos resultados deste procedimento, tornando-o mais seguro e aplicável a um maior número de doentes.²

Os novos métodos de mobilização celular de progenitores hematopoiéticos possibilitaram a aplicação do TAPH em mais de 90% dos doentes em que o procedimento está indicado, com um mínimo recurso a estratégias de remobilização. Investigações adicionais conduziram à introdução de novos agentes, nomeadamente citocinas, como é o caso da molécula BIO5192, responsável pela inibição do VLA-4, que em modelos animais demonstrou efeitos aditivos na mobilização quando combinada com o Plerixafor. No entanto, o método mais eficaz a utilizar permanece indeterminado, variando consoante o doente e a patologia associada, exigindo uma reavaliação continua dos padrões de mobilização.³⁶

Tendo em conta que o principal fator de eficácia associado ao transplante é a destruição de células tumorais, poderá ser possível ativar o sistema imune utilizando combinações de fatores de crescimento (por exemplo, IL 2 e GM-CSF), imunoterapia tumoral com células dendríticas ou recorrendo a imunoterapia mais direcionada, com uma maior eficácia nos casos de baixa carga tumoral, tal como anticorpos monoclonais, fatores anti-angiogénicos e células T geneticamente modificadas.

Outra possibilidade atualmente explorada passa por combinar a relativa segurança do TAPH na redução das células tumorais com a baixa toxicidade do transplante alogénico não mieloablativo, de modo a beneficiar do resultante efeito enxerto vs. tumor.⁸

Como perceptível ao longo de todo o trabalho o TAPH representa uma área de constante interesse da comunidade científica, quer pelo seu potencial de evolução e desenvolvimento, quer pelo benefício prático que cada melhoria pode trazer ao prognóstico do doente, conduzindo à redução da mortalidade e morbilidade e a uma melhoria na qualidade de vida.

Referências Bibliográficas

1. Henig I, Zuckerman T. Hematopoietic stem cell transplantation-50 years of evolution and future perspectives. *Rambam Maimonides Med J*. 2014;5(4):e0028.
2. Passweg JR, Halter J, Bucher C, et al. Hematopoietic stem cell transplantation: A review and recommendations for follow-up care for the general practitioner. *Swiss Med Wkly*. 2012;142(October):1-15.
3. Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation : one size does not fi t all. *Blood*. 2014;124(3):344-353.
4. Appelbaum FR. Hematopoietic-Cell Transplantation at 50. *N Engl J Med*. 2007;357(15):1472-1475.
5. Ezzone SA. History of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Semin Oncol Nurs*. 2009;25(2):95-99.
6. Thomas ED. Bone marrow transplantation: a historical review. *Med (Ribeirão Preto)* Vol33, no3 (jul-set 2000) p209-18 ISSN 0076-6046. 2000;36:209-218.
7. Little M, Storb R. History of haematopoietic stem-cell transplantation. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(3):231-238.
8. Schriber JR, Krishnan A, Forman SJ. Autologous Transplantation for Hematologic Malignancies. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*. ; 2008:1605-1617.
9. Gluckman E. Chapter 1 - A brief history of HSCT. *EBMT - Eshb*. 2012.
10. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2006;354(17):1813-1826.
11. P. Chute J. Hematopoietic stem cell biology. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*. 6th ed. Elsevier Health Sciences; 2013:78-87.
12. Nirmalanandhan VS, Sittampalam GS. Stem cells in drug discovery, tissue engineering, and regenerative medicine: emerging opportunities and challenges. *J*

- Biomol Screen.* 2009;14(7):755-768.
13. Lerou PH, Daley GQ. Therapeutic potential of embryonic stem cells. *Blood Rev.* 2005;19(6):321-331.
 14. Wodnar-filipowicz A. Biological properties of haematopoietic stem cells. *ESH-EBMT Handb Haematop Stem Cell Transplant.* 2012:57-73.
 15. Walasek MA, van Os R, de Haan G. Hematopoietic stem cell expansion: Challenges and opportunities. *Ann N Y Acad Sci.* 2012;1266(1):138-150.
 16. Levesque J, Winkler IG. Mobilization of hematopoietic stem cells : state of the art. 2008.
 17. Gur-Cohen S, Golan K, Lapid K, Canaani J, Kollet O, Lapidot T. Dynamic interactions between hematopoietic stem and progenitor cells and the bone marrow: current biology of stem cell homing and mobilization. In: *Hematology: Basic Principles and Practice.* 6th ed. Elsevier Health Sciences; 2013:117-125.
 18. Scott BL and DHJ. Hematopoietic stem cell transplantation for acquired nonmalignant diseases and myelodysplastic syndrome. In: *Hematology: Basic Principles and Practice.* ; 2008:1561-1576.
 19. P.McEver R, W.Luscinskas F. Cell adhesion. In: *Hematology: Basic Principles and Practice.* 6th ed. ; 2013:97-104.
 20. Angelopoulou M.K. Tsirkinidis P. Boutsikas G. Vassilakopoulos T.P. Tsirigotis P. New insights in the mobilization of hematopoietic stem cells in lymphoma and multiple myeloma patients. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
 21. Stem Cell Transplant for Cancer Why Are Stem Cell Transplants Used as Cancer Treatment.
 22. Bonig H, Papayannopoulou T. Mobilization of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells: General Principles and Molecular Mechanisms. In: *Stem Cell Mobilization.* Totowa,

- NJ: Humana Press; 2012:1-14.
23. Salvino MA, Ruiz J. Hematopoietic progenitor cell mobilization for autologous transplantation - a literature review. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016;38(1):28-36.
 24. Bensinger W, DiPersio JF, McCarty JM. Improving stem cell mobilization strategies: future directions. *Bone Marrow Transplant.* 2009;43(3):181-195.
 25. Cell HS. Long-Term Lymphohematopoietic. 1996;273(1995):3-6.
 26. Proverb C. Chapter 23. 2005.
 27. Deeg HJ. Hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2006;11(1):30.
 28. E.Heslop H. Overview of hematopoietic stem cell transplantation. In: *Hematology: Basic Principles and Practice.* 6th ed. Elsevier Health Sciences; 2013:1542-1545.
 29. McGlave P. Overview of cell- And imunne-based therapies. In: *Hematology: Basic Principles and Practice.* Elvesier Health Sciences; 2008:1555-1559.
 30. Leung AYH, Kwong Y-L. Haematopoietic stem cell transplantation: current concepts and novel therapeutic strategies. *Br Med Bull.* 2010;93:85-103.
 31. D.Rowley S, L.Donato M. Practical aspects of stem cell collection. In: *Hematology: Basic Principles and Practice.* ; 2008:1695-1712.
 32. Historical Review A HISTORY OF HAEMOPOIETIC CELL TRANSPLANTATION.
 33. Costa L.J. Kumar S. Stowell S.A. Dermer S.J. Mobilization and transplantation patterns of autologous hematopoietic stem cells in multiple myeloma and non-hodgkin lymphoma. *Cancer Control.* 2015:87-94.
 34. Pusic I, Jiang SY, Landua S, et al. Impact of Mobilization and Remobilization Strategies on Achieving Sufficient Stem Cell Yields for Autologous Transplantation.
 35. Duong HK, Savani BN, Copelan E, et al. Peripheral Blood Progenitor Cell Mobilization for Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation:

- Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20:1262-1273.
36. Giralt S, Costa L, Schriber J, et al. Optimizing Autologous Stem Cell Mobilization Strategies to Improve Patient Outcomes: Consensus Guidelines and Recommendations. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20:295-308.
 37. Chinen J, Buckley RH. NIH Public Access Transplantation immunology: Solid Organ and bone marrow. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;125:1-26.
 38. Costa LJ, Nista EJ, Buadi FK, et al. Prediction of Poor Mobilization of Autologous CD34⁺ Cells with Growth Factor in Multiple Myeloma Patients: Implications for Risk-Stratification. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20:222-228.
 39. Han J, Koh YJ, Moon HR, Ryoo HG, Cho C, Kim I. Adipose tissue is an extramedullary reservoir for functional hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*. 2009;115(5):957-965.
 40. Dent A, Berkowitz D. From www.bloodjournal.org by guest on August 9, 2016. For personal use only. Proteolytic Degradation Administration. 2016;70(1):173-176.
 41. Antagonists HE, Metabolism A. From www.bloodjournal.org by guest on December 21, 2015. For personal use only. Hematological Effects Antagonists. 2015:529-532.
 42. Massumoto C, Mizukami S. TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE MEDULA ÓSSEA E IMUNOTERAPIA PÓS-TRANSPLANTE. 2000;(3):405-414.
 43. Nichol KP, Cherry JD. The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at UNIVERSITY OF VIRGINIA on June 7, 2012. For personal use only. No other uses without permission. From the NEJM Archive. Copyright © 2010 Massachusetts Medical Society. All rights reserved. *N Engl J Med*. 1967;277(13):667-672.

44. M-Reboredo N, Díaz A, Castro A, Villaescusa RG. Collection, processing and cryopreservation of umbilical cord blood for unrelated transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26(12):1263-1270.
45. Rocha V, Crotta A, Ruggeri A, et al. Double cord blood transplantation: Extending the use of unrelated umbilical cord blood cells for patients with hematological diseases. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2010;23(2):223-229.
46. Jones J, Stevens CE, Rubinstein P, Robertazzi RR, Kerr A, Cabbad MF. Obstetric predictors of placental/umbilical cord blood volume for transplantation. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188(2):503-509.
47. Mancinelli F, Tamburini A, Spagnoli A, et al. Optimizing Umbilical Cord Blood Collection: Impact of Obstetric Factors Versus Quality of Cord Blood Units. *Transplant Proc.* 2006;38(4):1174-1176.
48. Kouroukis CT, Varela NP, Bredeson C, Kuruvilla J, Xenocostas A, Committee TS. Recommendation Report SCT-7 A Quality Initiative of the Plerixafor for Autologous Hematopoietic Stem Cell Mobilization and Transplantation for Patients in Ontario. 2015.
49. Roy V. Autologous Stem Cell Transplant for AL Amyloidosis. *Bone Marrow Res.* 2012;2012:1-5.
50. Education P. Autologous Blood & Marrow transplantation. 2011.
51. Patient & Caregiver Education Booklet. http://www.mozobil.com/document/Patient_Education_Book_BiologyofStemCells.pdf.
52. Koreth J, Cutler CS, Djulbegovic B, et al. High-dose Therapy with Single Autologous Transplantation versus Chemotherapy for Newly Diagnosed Multiple Myeloma: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007;13(2):183-196.

53. Philip T, Guglielmi C, Hagenbreek A, et al. Autologous Bone Marrow Transplantation As Compared With Salvage Chemotherapy in Relapses of Chemotherapy-Sensitive Non-Hodgkin' S Lymphoma. *N Engl J Med.* 1995;333(23):1540-1545.
54. Linch DC, Goldstone AH, McMillan A, et al. Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet.* 1993;341(8852):1051-1054.
55. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, et al. Hematopoietic SCT in Europe 2013: recent trends in the use of alternative donors showing more haploidentical donors but fewer cord blood transplants. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50(4):476-482.
56. Kyle RA, Rajkumar V. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia.* 2009;23(1):3-9.
57. Mateos MV. Indications for HSCT Multiple myeloma.
58. Harousseau P. JL. M. Autologous hematopoietic stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2009;360(25):2645-2654.
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L354757052>;
59. Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood.* 2015;111(5):2516-2521.
60. Mohty M. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: a position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49(10):865-872.
61. Rajkumar SV. Multiple Myeloma. *Curr Probl Cancer.* 2009;33(1):7-64.
62. Al-tonbary Y. Epidemiology of Hodgkin ' s Lymphoma. 2011;5(5):17-22.
63. Connors JM. State-of-the-art therapeutics: Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2005;23(26):6400-6408.

64. Townsend W, Linch D. Hodgkin's lymphoma in adults. *Lancet*. 2012;380(9844):836-847.
65. Shankland KR, Armitage JO, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet*. 2012;380(9844):848-857.
66. Reimer P, Rüdiger T, Geissinger E, et al. Autologous Stem-Cell Transplantation As First-Line Therapy in Peripheral T-Cell Lymphomas: Results of a Prospective Multicenter Study. *J Clin Oncol*. 2008;27(1):106-113.
67. Review AS. Review Article. 2013.
68. Vonk MC, Marjanovic Z, van den Hoogen FHJ, et al. Long-term follow-up results after autologous haematopoietic stem cell transplantation for severe systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(1):98-104.
69. Burt RK, Traynor A, Statkute L, et al. Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Systemic Lupus Erythematosus. *Jama*. 2006;295(5):527-535.
70. Burt RK, Craig RM, Milanetti F, et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in patients with severe anti-TNF refractory Crohn disease : long-term follow-up. *Blood*. 2011;116(26):6123-6132.
71. Lima M, Alousi A, Giralt S. Preparative regimens for hematopoietic cell transplantation. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*. ; 2008:1665-1675.
72. Narayanasami U, Kanteti R, Morelli J, et al. Randomized trial of filgrastim versus chemotherapy and filgrastim mobilization of hematopoietic progenitor cells for rescue in autologous transplantation. 2001;98:2059-2064.
73. Hiwase DK, Bollard G, Hiwase S, Bailey M, Muirhead J, Schwarzer AP. Intermediate-dose CY and G-CSF more efficiently mobilize adequate numbers of PBSC for tandem autologous PBSC transplantation compared with low-dose CY in patients with multiple myeloma. *Cytotherapy*. 2007;9(6):539-547.

74. Sheppard D, Bredeson C, Allan D, Tay J. Systematic Review of Randomized Controlled Trials of Hematopoietic Stem Cell Mobilization Strategies for Autologous Transplantation for Hematologic Malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18:1191-1203.
75. Russell N, Mesters R, Schubert J, et al. A phase 2 pilot study of pegfilgrastim and filgrastim for mobilizing peripheral blood progenitor cells in patients with non-Hodgkin's lymphoma receiving chemotherapy. *Haematologica.* 2008;93(3):405-412.
76. Ratajczak MZ. A novel view of the adult bone marrow stem cell hierarchy and stem cell trafficking. *Leukemia.* 2015;29(4):776-782.
77. Arora M, Burns LJ, Barker JN, et al. Randomized comparison of granulocyte colony-stimulating factor versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus intensive chemotherapy for peripheral blood stem cell mobilization and autologous transplantation in multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2004;10(6):395-404.
78. Cashen AF, Nervi B, DiPersio J. AMD3100: CXCR4 antagonist and rapid stem cell-mobilizing agent. *Future Oncol.* 2007;3(1):19-27.
79. Flomenberg N, Devine SM, DiPersio JF, et al. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. 2013;106(5):1867-1874.
80. Stiff P, Micallef I, McCarthy P, et al. Treatment with Plerixafor in non-Hodgkin's Lymphoma and Multiple Myeloma Patients to Increase the Number of Peripheral Blood Stem Cells When Given a Mobilizing Regimen of G-CSF: Implications for the Heavily Pretreated Patient. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15(2):249-256.
81. Shaughnessy P, Chao N, Shapiro J, et al. Pharmacoeconomics of Hematopoietic Stem

- Cell Mobilization: An Overview of Current Evidence and Gaps in the Literature. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19:1301-1309.
82. Domingues MJ, Nilsson SK, Cao B. New agents in HSC mobilization. *Int J Hematol*. 2016.
 83. Hopman RK, DiPersio JF. Advances in stem cell mobilization. *Blood Rev*. 2014;28(1):31-40.
 84. Papayannopoulou T, Nakamoto B. Peripheralization of hemopoietic progenitors in primates treated with anti-VLA4 integrin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(20):9374-9378.
 85. Zohren F, Toutzaris D, Kla V, Hartung H, Kieseier B, Haas R. Brief report The monoclonal anti – VLA-4 antibody natalizumab mobilizes CD34² hematopoietic progenitor cells in humans. *Library (Lond)*. 2008;111(7):3893-3895.
 86. Ballen KK, Shpall EJ, Avigan D, et al. Phase I trial of parathyroid hormone to facilitate stem cell mobilization. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13(7):838-843.
 87. Adams GB, Martin RP, Alley IR, et al. Therapeutic targeting of a stem cell niche.
 88. D.Rowley S, L.Donato M. Practical aspects of hematologic stem cell harvesting and mobilization. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*. Elsevier Health Sciences; 2013:1472-1485.
 89. Micallef IN, Stiff PJ, DiPersio JF, et al. Successful Stem Cell Remobilization Using Plerixafor (Mozobil) Plus Granulocyte Colony-Stimulating Factor in Patients with Non-Hodgkin Lymphoma: Results from the Plerixafor NHL Phase 3 Study Rescue Protocol. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(12):1578-1586.
 90. Jantunen E, Kvalheim G. Mobilization strategies in hard-to-mobilize patients with lymphoid malignancies. *Eur J Haematol*. 2010;85(6):463-471.
 91. Olivieri A, Marchetti M, Lemoli R, et al. Proposed definition of “poor mobilizer” in

- lymphoma and multiple myeloma: an analytic hierarchy process by ad hoc working group Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo on behalf of the Italian Group for Stem Cell Transplantation (GITMO). 2011;47.
92. Gambell P, Herbert K, Dickinson M, et al. Peripheral Blood CD34+ Cell Enumeration as a Predictor of Apheresis Yield: An Analysis of More Than 1,000 Collections. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18(5):763-772.
 93. Stiff PJ, Micallef I, Nademanee AP, et al. Transplanted CD34 + Cell Dose Is Associated with Long-Term Platelet Count Recovery following Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplant in Patients with Non-Hodgkin Lymphoma or Multiple Myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17(8):1146-1153.
 94. Ketterer G.; Raba, M.; Espinouse, D.; Sonet, A.; Tremisi, P.; Dumontet, C.; Moullet, I.; Eljaafari-Corbin, A.; Neidhardt-Berard, E. M.; Bouafia, F.; Coiffier, B. N. S. High CD34+ cell counts decrease hematologic toxicity of autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Blood*. 1998;91(9):3148-3155.
 95. Shu Z, Heimfeld S, Gao D, Hutchinson F. HHS Public Access. 2015;49(4):469-476.
 96. Sauer-Heilborn A, Kadidlo D, McCullough J. Patient care during infusion of hematopoietic progenitor cells. *Transfusion*. 2004;44(6):907-916.
 97. Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation : one size does not fit all. 2016;124(3):344-354.
 98. Gratwohl A, Carreras E. Chapter 8: Principles of conditioning. *EBMT-ESH Handb*. 2012:122-137.
 99. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, et al. NIH Public Access. 2010;15(12):1628-1633.
 100. Majhail N, Weisdorf D. Complications after hematopoietic cell transplantation. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*. ; 2008:1755-1767.
 101. Carreras E. Early complications after HSCT. *EBMT-ESH Handb*. 2012:176–195.

<http://ebmtonline.forumservice.net/media/11/main.html>.

102. Mank A. Chapter 10 - Supportive care. *EBMT-ESH Handb.* 2012.
103. Mensa J, Carreras E. Chapter 12 - Infections after HSCT. *EBMT-ESH Handb.* 2012.
104. Spielberger R, Stiff P, Bensinger W, et al. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. *N Engl J Med.* 2004;351(25):2590-2598.
105. Dann EJ, Epelbaum R, Avivi I, et al. Fertility and ovarian function are preserved in women treated with an intensified regimen of cyclophosphamide, adriamycin, vincristine and prednisone (Mega-CHOP) for non-Hodgkin lymphoma. *Hum Reprod.* 2005;20(8):2247-2249.
106. Lass A, Akagbosu F, Brinsden P. Sperm banking and assisted reproduction treatment for couples following cancer treatment of the male partner. *Hum Reprod Update.* 2001;7(4):370-377.
107. Krishnan a, Bhatia S, Slovak ML, et al. Predictors of therapy-related leukemia and myelodysplasia following autologous transplantation for lymphoma: an assessment of risk factors. *Blood.* 2000;95(5):1588-1593.
108. Syrjala KL, Langer SL, Abrams JR, Storer BE, Martin PJ. Late effects of hematopoietic cell transplantation among 10-year adult survivors compared with case-matched controls. *J Clin Oncol.* 2005;23(27):6596-6606.
109. Gee AP. Graft engineering and cell processing. In: *Hematology: Basic Principles and Practice.* Elsevier Health Sciences; 2013:1492-1502.
110. Bone marrow biopsy. <https://medlineplus.gov/ency/article/003934.htm>.
111. Britannica E. Bone marrow transplant. <https://www.britannica.com/topic/bone-marrow-transplant>. Published 2009.