



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESPECIALIDAD DE HEMATOLOGIA

SECRETARIA DE MARINA. ARMADA DE MEXICO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES, CENTRO MEDICO NACIONAL, LA RAZA.

TITULO DE TESIS:

MOVILIZACION DE CELULAS HEMATOPOYETICAS A SANGRE PERIFERICA

CON FILGASTRIM (FEC-CG) EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE

AUTOLOGO DE CELULAS HEMATOPOYETICAS.

PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN HEMATOLOGIA.

PRESENTA: DR. JOSE REFUGIO LOPEZ GUTIERREZ

ASESOR DE TESIS: DR. JORGE VELA OJEDA.

IMSS LA RAZA, MEXICO D.F.

MEXICO, D.F. FEBRERO DEL 2002.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Tema	Página
Prefacio	2
Antecedentes	4
Información acerca de las drogas	9
Planteamiento del problema	12
Objetivos	14
Hipótesis	15
Variables de trasplante autólogo	16
Enfermos y métodos	17
Criterios de inclusión	17
Criterios de no inclusión	17
Criterios de exclusión	18
Esquemas de tratamiento de movilización	18
Régimen de acondicionamiento autólogo	20
Análisis estadístico	21
Aspectos éticos	23
Financiamiento y costos	24
Resultados	26
Discusión	30
Bibliografía	32
Anexo 1 Hoja de consentimiento trasplante	37
Anexo 2 Criterios de toxicidad de la OMS	39
Anexo 3 Hoja de aleatorización trasplante autólogo	41
Anexo 4 Declaración de Helsinki	42
Anexo 5 Hojas de reporte de casos.	45

PREFACIO

Como en la mayoría de los trabajos de investigación, intervienen varias personas que colaboraron en forma valiosa.

Para la realización de un trabajo, como el actual, en el que merece especial mención el Dr. Jorge Vela Ojeda.

Por otra parte, es también importante el apoyo recibido, durante un ciclo que finaliza, por parte de mis Padres, mi Esposa e Hijos, que toleraron muchos sacrificios.

Ustedes me dicen, entonces, que se tiene que perecer

Como también las flores que cultivé perecerán

¿De mi nombre nada quedará

Nadie mi fama recordará?

Pero los jardines que planté, son jóvenes y crecerán.....

Las canciones que canté, ¡cantándose seguirán!!!!

I. ANTECEDENTES

El trasplante de células hematopoyéticas (TCH) es una herramienta terapéutica esencial para todo Servicio de Hematología. Existen varios tipos de TCH: A.- Alogénico (TACH), B.- Autólogo (TAUCH) y C.- Singénico, Hoy en día, el TACH es el tratamiento de elección en algunas enfermedades malignas (leucemias agudas y crónicas, síndrome mielodisplásico) y no malignos (anemia aplásica, talasemias, drepanocitosis, inmunodeficiencias congénitas). Así mismo el TAUCH es el mejor tratamiento en algunos casos de Linfoma no Hodgkin, Enfermedad de Hodgkin, Mieloma Múltiple y tumores sólidos como Neuroblastoma.¹ En general, se pueden obtener células hematopoyéticas de dos fuentes principales: médula ósea y sangre periférica. En las décadas 70's y 80's los TCH se realizaban de la médula ósea, sin embargo desde principios de los 90's el TCH colectadas por aféresis de la sangre periférica, ha remplazado al TCH de médula ósea en trasplante autólogo.² El TAUCH de células de la sangre periférica produce una recuperación hematológica más rápida, menor uso de antibióticos sistémicos, menor toxicidad, menos días de ocupación de camas hospitalarias^{3,4} se evita el uso de un quirófano y los riesgos de la anestesia general, menor contaminación con células tumorales⁵ y una recuperación inmunológica más rápida⁶. La cantidad de células progenitoras hematopoyéticas en la sangre periférica en condiciones normales, es muy baja (< 1%), por lo que existen varios métodos para movilizar las células hematopoyéticas de la médula ósea hacia la sangre periférica: A.- Quimioterapia sola, principalmente ciclofosfamida a dosis altas (4-7 g / m²)⁷. B.- Quimioterapia + factor estimulante de colonias de granulocitos (FEC-G)⁸, o factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (FEC-GM)⁹ y C.- Sólo factores estimulantes de colonias (G,¹⁰ GM¹¹ interleucina-3¹² o factor stem-cell¹³).

Uno de los esquemas más usados es dosis altas de ciclofosfamida + FEC-G o GM. La cantidad de células CD34+ obtenidas por este método es buena, sin embargo, puede haber toxicidad propia de la quimioterapia como cistitis hemorrágica, toxicidad hematológica, fiebre e infecciones, uso de antibióticos sistémicos y el paciente debe permanecer internado en el hospital en promedio 14-16 días.⁹

Existen estudios que han demostrado que la movilización de células hematopoyéticas a sangre periférica con FEC-G sin quimioterapia puede producir resultados similares a quimioterapia + FEC-GM en cuanto a la obtención de células mononucleares (CMN), células CD-34 y unidades formadoras de colonias GM¹⁴ pero con algunas ventajas como menor toxicidad, más simplicidad y se evita el internamiento del paciente.

Los factores de crecimiento hematopoyético G (filgastrim) y GM (molgamostrim) han sido los más usados en todo el mundo para la movilización de células hematopoyéticas. Si bien las dos sustancias producen efectos y resultados parecidos, existen algunas diferencias entre ambos: el FEC-GM por su estimulación de las células monocito-macrófago, produce algunas interleucinas con IL-1, IL-6, interferón γ y el factor de necrosis tumoral α , todo lo cual le confiere propiedades de estimulación de hematopoyesis, antitumorales y de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.¹⁵ Además el FEC-GM aumenta la función de presentación de antígenos por células accesorias como monocitos y macrófagos.

El FEC-GM por otra parte, es el factor de crecimiento hematopoyético más usado en el mundo. Su efecto de movilización hematopoyética lo realiza promoviendo en forma rápida el egreso de células progenitoras hacia el espacio intravascular. La $\alpha 4\beta 1$ integrina (antígeno 4 de activación tardía – VLA-4) se expresa normalmente en la mayoría de las células CD34+ y se une fuertemente a su ligando la molécula 1 de adhesión intercelular-vascular

(VCAM-1) que se expresa en las células del estroma de la médula ósea y se une también a la fibronectina. Los mecanismos de movilización celular del FEC-GC se llevan a cabo produciendo:

- A. Hipo-regulación de la familia de las integrinas VLA-4.
- B. Daño directo a la matriz extracelular por la gelatinasa contenida en los gránulos secundarios de los neutrófilos y
- C. Interacción directa con el Factor Stem-Cell. ¹⁶

Las células hematopoyéticas movilizadas a sangre periférica con FEC-G, tiene algunas características que las diferencian de las células hematopoyéticas de la médula ósea:

A.- Expresan HLA-DR, CD-33 y CD-13 y no expresan CD-38 (CD38-. HLA-DR +). La población celular CD34+, CD38- se ha asociado a una capacidad de repoblación a largo plazo.

B.- Las células hematopoyéticas movilizadas no se encuentran en fase de síntesis del ciclo celular, a diferencia de las de médula ósea.

C.- Las células iniciadoras de cultivos hematopoyéticos a largo plazo (LTC-IC) son las que más se aproximan a las células hematopoyéticas pluripotentes en el humano. La movilización con FEC-G aumenta este tipo celular en comparación con la médula ósea.

D.- El tratamiento con FEC-G protege a las células CD34+ de apoptosis. ¹⁷

E.- La cantidad de linfocitos es 10-15 veces más alta.

F.- Aumenta la cantidad de células dendríticas linfoides (células dendríticas tipo 2) lo cual favorece el injerto celular.

G.- Aumenta 10-20 veces la cantidad de células NK (asesinas) las cuales ejercen un efecto antitumoral directo.

Además de todo lo mencionado, el FEC-G es útil en los pacientes que han fallado a otros esquemas de movilización celular, incluyendo quimioterapia y/u otros factores de crecimiento.¹⁸

Para TACH, también se han intentado la movilización de células hematopoyéticas de donador sano, pero por razones obvias, en este caso no se puede utilizar quimioterapia, únicamente factores de crecimiento, de los cuales el más usado es el FEC-G.¹⁹⁻³⁰ La técnica de movilización, colección y seguridad del procedimiento, ya ha sido comunicada en reportes previos.²¹ La incidencia de enfermedad injerto contra huésped aguda (EICHa) es parecida cuando se compara con TACH de médula ósea. Algunos estudios han reportado mayor incidencia de EICH crónica (EICHc)²² pero en otros estudios no se ha reportado lo mismo.²³ Al respecto, existen dos estudios recientes con un número adecuado de pacientes: el IBMTR²⁴ ha reportado resultados de un estudio retrospectivo pareado, realizado en 824 pacientes (288 de sangre periférica y 536 de médula ósea); el injerto de neutrófilos fue más rápido en el primer grupo (14 vs 19 días $p < 0.001$), lo mismo sucedió en el injerto de plaquetas (18 vs 25 días $p < 0.001$). No hubo diferencia estadísticamente significativa en la incidencia de EICHa grado II-IV y la incidencia de EICHc fue mayor en el grupo de TACH de sangre periférica (probabilidad a un año de 65% vs 53% $p = 0.02$). Sin embargo la mortalidad relacionada al TACH fue más baja, la sobrevida libre de leucemia fue más alta sobre todo en pacientes con estudios de la enfermedad avanzados y el tiempo de hospitalización fue menor (23 vs 28 días, $p = 0.003$) para el grupo de sangre periférica.

El grupo de Seattle ²⁵ recientemente reportó sus resultados de un estudio prospectivo, aleatorizado realizado en 172 pacientes con neoplasias hematológicas. El injerto de neutrófilos y plaquetas fue más rápido para el grupo de sangre periférica, la incidencia de EICHa grado II-IV a 100 días fue de 64% y 57% respectivamente ($p = 0.3$) y la incidencia de EICHc fue de 46% vs 35% ($p = 0.5$). La supervivencia a 2 años fue de 66% en el grupo de sangre periférica y 54% para el de médula ósea ($p = 0.06$) y la supervivencia libre de enfermedad a 2 años de 65% y 45% respectivamente ($p = 0.03$).

La dosis de FEC-G empleada para movilización de células hematopoyéticas en la mayoría de los estudios, oscila entre 5-10 mcg/kg/día por 4-7 días ³⁶, pero se han usado dosis mayores de 16-20 mcg/kg/día, obteniendo mayor número de células hematopoyéticas. ^{27,28}

Cada dosis se aplica en forma subcutánea cada 24 h, sin embargo, existe la controversia si aplicado cada 12 h se pudiera incrementar la cantidad de células movilizadas. ^{29,30}

En trasplante autólogo, el tiempo ideal para iniciar el procedimiento de aféresis, es muy importante, pues de ello depende el éxito en la cantidad de células cosechadas. Por tradición se ha utilizado el incremento de los leucocitos (posterior a la aplasia) a $> 1000 \text{ mm}^3$, sin embargo no existe una correlación entre la cantidad de leucocitos y la cantidad de células cd 34+ colectadas. ³¹ Tampoco existe correlación con la cantidad de células mononucleares (CMN), monocitos o plaquetas. El mejor estudio que predice la cantidad de células cd 34+ en un procedimiento de aféresis es la cuenta absoluta de células CD34 en sangre periférica realizada el mismo día de la aféresis. ³² Una cuenta de 10-50 células CD34+ en sangre periférica, predice la obtención de $1-2 \times 10^6$ células CD34+/kg. ³³ También existe una correlación directa entre las células CD 34+ de sangre periférica y las células formadoras de colonias y las células iniciadoras de cultivo a largo plazo. ³⁴

II.- INFORMACION SOBRE LAS DROGAS.

FILGASTRIM (FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS DE GRANULOCITOS) NEUPOGEN.³⁵

Metabolismo y excreción. Se metaboliza en hígado y riñón, después de su aplicación sistémica se logran sus concentraciones mas altas a las 4-8 h, su vida media es de 3-5 h.

Administración. No se debe confundir la cantidad de microgramos (μg) por miligramos (mg).

Aplicación subcutánea. Se debe diluir en glucosa al 5% y administrar cada 24 h.

Aplicación endovenosa. Diluir en glucosa al 5% y administrar en 15-30 minutos.

Estabilidad. Disponible en el Sector salud en viales de 300 μg (1ml). No tenemos disponible la presentación de 480 μg (1.6 ml). Se debe almacenar refrigerado de 4-8 °C, no se debe congelar o exponer a la luz solar. No se debe agitar. La solución no diluida es estable por 24 h a temperatura ambiente y 7 días en refrigeración.

Interacción con drogas. Es incompatible con solución salina, con el litio y con la mayoría de los antibióticos del tipo de las cefalosporinas.

Efectos adversos. Neutrofilia, fiebre, escalofríos, elevación transitoria de DHL y fosfatasa alcalina, leve dolor óseo, raramente alergia y anafilaxia.

Precauciones. No se administre a pacientes con alergia a proteínas derivadas de E.coli.

Pertenece a los medicamentos de embarazo clase C.

CICLOFOSFAMIDA, CITOXAN.³⁶

Mecanismo de acción. Es un agente alquilante no específico de ciclo celular. Se activa en hígado, interfiere con el metabolismo del ADN en las células tumorales.

Metabolismo y excreción. Se metaboliza en hígado, se elimina en forma de metabolitos y solo el 5-25% de la droga original se elimina por el riñón. La vida media es de 4-6.5 h.

Administración. Se puede administrar por vía oral o endovenosa. La segunda mediante dilución con solución glucosada al 5% o solución salina 0.9% en infusión de 60 min., la dosis total dividida en dos días. Se requiere hiper-hidratación 24 h antes y 72 h después de su aplicación, sobre todo cuando se utiliza a dosis altas con el fin de evitar cistitis hemorrágica.

Estabilidad. Disponible en el Sector Salud en tabletas de 50 mg y en viales de 200 mg y 500 mg. Es estable a temperatura ambiente por 24 h o refrigerado por 6 días.

Interacción con drogas. Barbitúricos, bloqueadores de succinilcolina, cloranfenicol, tiazidas, anticoagulantes y digoxina. Puede potenciar los efectos cardiotóxicos de las antraciclinas.

Efectos adversos. Leucopenia, trombocitopenia, náuseas, vómitos, anorexia, diarrea, cistitis hemorrágica, hiponatremia, hipercalcemia, hiperuricemia, secreción inapropiada de hormona antidiurética, neumonía (rara vez), insuficiencia cardíaca congestiva (miocarditis hemorrágica) o derrame pericárdico, alopecia, oligospermia, fibrosis ovárica.

Precauciones. Contraindicada en mujeres embarazadas. Pertenece a los medicamentos de categoría D para el embarazo.

MESNA (ACIDO 2-MERCAPTO-ETANO-SULFONICO) UROMITEXAN. ³⁷

Mecanismo de acción. Es un protector de la mucosa vesical. Produce una unión tipo sulfidriilo con la acroleina (producto de la ciclofosfamida e ifosfamida que es tóxico a la vejiga).

Metabolismo y excreción. Se excreta por la orina rápidamente después de su aplicación endovenosa. La bio-disponibilidad oral es de 75%. Su vida media en sangre es de 0.36 h.

Administración. Se mezcla con solución glucosada al 5% o solución salina 0.9%. Se puede usar la vía oral solo en casos necesarios.

Interacción con drogas. Es incompatible con cisplatino, carboplatino y epirrubicina en la misma solución. Inactiva a la mecloretamina (mostaza nitrogenada).

Toxicidad. Náuseas y vómitos.

Precauciones. Pertenece a la clase B de drogas usadas en el embarazo.

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACION.

El TCH Alogénico y Autólogo, se realiza cada vez en mayor número en todo el mundo, pues constituye la mejor opción terapéutica en la mayoría de las enfermedades oncohematológicas y en algunas enfermedades hematológicas no malignas.

La absorción de las células hematopoyéticas se realizaba en un principio de la médula ósea, necesitando entonces de un quirófano disponible cualquier día de la semana (sobre todo en hospitales de referencia), además al donador se le exponía al riesgo de la anestesia general (para poder realizar de 300 a 400 punciones en las crestas iliacas postero-superiores), el donador tenía que internarse en el hospital 3 días y se incapacitaba una semana por el dolor óseo posterior a la extracción de las células y en raras ocasiones, ocurría osteomielitis.

Hoy en día, gracias al progreso técnico en las máquinas de aféresis y a los conocimientos de las técnicas de movilización de células hematopoyéticas a la sangre periférica, se pueden evitar todos estos contratiempos.

Actualmente en TAUCH la mayoría de los centros utiliza de la sangre periférica y está ocurriendo lo mismo en TACH.

En TAUCH, el mejor método para esta movilización es la combinación de quimioterapia, especialmente dosis altas de ciclofosfamida, + factor estimulante de colonias, especialmente el filgastrim. Sin embargo, este método tiene sus riesgos (aplasia, fiebre, uso de antibióticos, transfusiones, se aplica dentro el hospital y la movilización ocurre aproximadamente 10 días después de la aplicación de la quimioterapia). El uso de filgastrim sin quimioterapia, ha producido resultados, si bien no iguales al método anterior, si clínicamente útiles.

Se requiere de un estudio que responda la pregunta:

¿En la movilización de las células hematopoyéticas a sangre periférica para TAUCH, las dosis altas de filgastrim 16 µg/kg/día son igualmente efectivas que el esquema ciclofosfamida 4 gr/m²/día + filgastrim 10 µg/kg/día?

En TAUCH, por razones obvias, no se puede administrar quimioterapia a un donador sano, por lo que la única opción es aplicar factor estimulante de colonias. La dosis más utilizada de filgastrim es igualmente de 10 µg / kg / día por 5 días, sin embargo en el 15-20% de estos pacientes no se obtienen cantidades deseables de células hematopoyéticas, por lo mismo es necesario contestar a la pregunta:

¿ En la movilización de células hematopoyéticas a sangre periférica para TACH, son las dosis altas de filgastrim 16 µg / kg / día por 5 días son igualmente efectivas que el esquema de dosis estándar (10 µg / kg / día por 5 días)?

IV.- OBJETIVOS

En trasplante autólogo:

4.1 Comparar la eficacia de la movilización celular de los esquemas ciclofosfamida 4 gr /m² /día + filgastrim 10 µg /kg /día por 5 días.

4.2 Comparar la toxicidad de ambos esquemas en las variables de movilización: días de fiebre, días de antibióticos, días de hospitalización, transfusiones, número de dosis de filgastrim.

4.3 Comparar entre los dos esquemas las variables de trasplante: días de injerto de plaquetas y neutrófilos, días de: hospitalización, uso de antibióticos sistémicos.

4.4 Comparar el costo de ambos esquemas.

V. HIPOTESIS

5.1 El esquema de movilización celular filgastrim $16 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ por 5 días es igualmente efectivo que ciclofosfamida $4 \text{ gr} / \text{m}^2 / \text{día}$ + filgastrim $10 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ en TAUCH.

5.2 El esquema de movilización celular filgastrim $16 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ en TAUCH.

5.3 El esquema de movilización celular filgastrim $16 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ por 5 días es más económico que el esquema ciclofosfamida $4 \text{ gr} / \text{m}^2 / \text{día}$ + filgastrim $10 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ en TAUCH.

VI. VARIABLES

6.1 VARIABLES DE TRASPLANTE AUTOLOGO.

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Prueba estadística
CMN	Cuantitativa continua Dependiente	10 ⁵ /kg del receptor	U Mann- Withney
CD 34+	Cuantitativa continua Dependiente	10 ⁵ /kg del receptor	U Mann- Withney
# de aféresis	Cuantitativa continua Dependiente	Numérica	U Mann- Withney
Días de fiebre	“ “ “	Numérica	U Mann- Withney
Días de antibióticos	“ “ “	Numérica	U Mann- Withney
Días de Hospitalización	Cuantitativa continua Dependiente	Numérica	U Mann- Withney
Paquete globular	“ “ “	Numérica	U Mann- Withney
Concentrados Plaquetarios	Cuantitativa continua Dependiente	Numérica	U Mann- Withney
# viales usados	“ “ “	“ “	“ “ “
Injerto de Neutrófilos	“ “ “	Días	“ “ “
Injerto de plaquetas	“ “ “	Días	“ “ “
Costos	Cuantitativa continua Dependiente	Pesos Mexicanos	“ “ “
Toxicidad	Cuantitativa ordinal	OMS	Exacta de Fischer
Tipo de Tratamiento	Cuantitativa continua Dependiente	Grupo 1 Grupo 2	Exacta de Fischer U Mann- Withney

VII. ENFERMOS Y METODOS

7.1 DISEÑO DE ESTUDIO.

Se realizó un ensayo clínico fase III, prospectivo, longitudinal, aleatorizado y comparativo, en el cual se incluyeron 30 pacientes del Hospital de Especialidades del Centro Médico la Raza.

7.2 SELECCIÓN DE PACIENTES.

7.2.1. CRITERIOS DE INCLUSION

A.- Pacientes candidatos de TAUCH previamente aprobados por el Comité de Trasplante de Células Hematopoyéticas del HECMR.

B.- Edad mayor a 15 años, menor a 60 en caso de TAUCH.

C.- Estado físico general (Karnofsky >70%).

D.- Pruebas de funcionamiento hepático (TGO, TGP, bilirrubinas totales) no mayor de 3 veces por arriba de los límites normales.

E.- Depuración de creatinina en orina de 24 h mayor a 50 ml /min.

F.- Ecocardiograma con FEVI mayor de 50%.

G.- Hoja de consentimiento informado firmada por el paciente (anexo 1).

7.2.2 CRITERIOS DE NO INCLUSION.

A.- Pacientes tratados con quimioterapia y / o factores de crecimiento hematopoyético en los últimos 30 días.

B.- Pacientes previamente trasplantados.

C.- Pacientes que hayan recibido más de tres esquemas de quimioterapia previos a la movilización (en caso de TAUCH).

D.- Donadores sanos que no tengan acceso venoso adecuado para aféresis.

E.- Pacientes VIH positivos.

F.- Historia de hipersensibilidad a cualquiera de las drogas.

G.- Pacientes con HLA 5/6.

7.2.3 CRITERIOS DE EXCLUSION.

A.- Deseo del paciente de salir del estudio.

B.- Reacciones adversas al tratamiento que comprometan la vida del enfermo.

7.2.4 PROGRAMA DE TRABAJO PREVIO A LA MOVILIZACION Y AL TRASPLANTE.

El enfermo será presentado ante el Comité de Trasplante de Células Hematopoyéticas del HECMR y aceptado para trasplante del mismo. Deberá tener todas sus interconsultas con el grupo multidisciplinario (histocompatibilidad, banco de sangre, bucodentomaxilar, ecocardiograma, psiquiatría, pruebas de función respiratoria, nutrición, trabajo social y cirugía).

7.2.5 ESQUEMAS DE TRATAMIENTO DE MOVILIZACION DE CELULAS HEMATOPOYETICAS A SANGRE PERIFERICA.

TRASPLANTE AUTOLOGO:

GRUPO 1.- Ciclofosfamida 4 g /m² / día dividido en dos dosis cada 24 h, diluir cada dosis en 200 ml solución glucosada al 5% y pasar i.v. en infusión de 60 min. FEC-G FILGASTRIM 10 µg / kg / día por vía subcutánea, iniciando 24 h después de la segunda dosis de ciclofosfamida, cada 24 h y hasta completar la cosecha de células hematopoyéticas. Cada dosis de FEC.G se aplicará a las 20 h PM.

Mesna 20% de la dosis de ciclofosfamida i.v. a las 0, 3, y 6 h de aplicada la misma.

Hiperhidratación solución mixta 4000 ml i.v. al día más ingesta oral de 2000 ml a 3000 ml.

Los procedimientos de aféresis, iniciarán cuando los leucocitos totales aumenten a 10 000 mm³, o bien cuando existan >20 células CD 34+ totales en sangre periférica.

GRUPO 2.- FILGASTRIM 16 µg /kg /día por 5 días por vía subcutánea. Cada dosis de FEC-G se aplicará a las 20 h PM. Los procedimientos de aféresis se realizarán los días 5 y 6 del ciclo. Los pacientes serán internados en el Hospital según el criterio del médico tratante. En el caso de trasplante autólogo en el grupo 1, se realizará BH completa, glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, proteínas totales, albúmina, globulinas, DHL, TGO, TGP, FA, bilirrubinas, y EGO en forma basal y dos veces por semana (lunes y jueves). Se realizará BH completa diario, a partir de que los leucocitos del paciente desciendan a < 1000 mm³. Se realizará cuenta de células CD 34+ diario a partir de que los leucocitos asciendan a > 1000 mm³. Una vez que existan 10 000 leucocitos mm³ o > 10 células CD 34+ en la sangre periférica, iniciará el primer procedimiento de aféresis.

El objetivo de las aféresis se cumplirá cuando se tengan > 2 x 10⁸/kg de CMN o > de 4x10⁶/kg de células CD 34+.

En el grupo 2 se realizarán las mismas cuentas celulares en los días 5 y 6 (previo a las aféresis). Las células hematopoyéticas serán criopreservadas con dimetilsulfóxido al 10% según el método de criopreservación controlada hasta llegar a -80 °C y posteriormente se almacenarán en nitrógeno líquido a -190 °C. El día del trasplante, serán descongeladas a 37°C e infundidas al paciente sin desieritocitar. A cada bolsa se le determinarán: CMN totales, células CD 34+, CD 3, CD 19, CD 20, CD 38, CD 56 y HLA-DR antes de la criopreservación y después de la descongelación.

7.2.6. PROGRAMA DE TRABAJO PREVIO AL TRASPLANTE.

7.2.6.1 TRASPLANTE AUTOLOGO

REGIMEN DE ACONDICIONAMIENTO: Linfoma no Hodgkin y Enfermedad de Hodgkin:

BEAC:

BCNU 450 mg / m² i.v. + 200 ml solución glucosada al 5% infusión de 2 h, día -6.

ETOPOSIDO (VP-16) 200 mg /m² i.v. cada 12 h + 200 ml solución glucosada al 5% en infusión de 60 min. Días -5, -4, -3, -2. (1600 mg / m² dosis total).

ARA-C mismas dosis y mismos días que VP-16.

Ciclofosfamida 35 mg / kg / día + 200 ml solución glucosada al 5% para infusión de 60 min. Cada 24 h los días -5, -4, -3, -2. Mesna 20% de la dosis i.v. a las 0, 3 y 6 h posterior a la ciclofosfamida. Hiperhidratación en la forma arriba anotada.

Mieloma Múltiple: **BEAM:**

BCNU, ETOPOSIDO Y ARA-C MISMAS DOSIS.

MELFALAN 140 mg /m² / día vía oral cada 24 h los días -5, -4, -3, -2. Las tabletas se pulverizan y se mezclan con jugo de naranja 200 ml, tomarlo en ayunas.

7.2.6.2

ESQUEMA DE PROFILAXIS ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUESPED.

Ciclosporina A 6 mg / kg i.v. infusión continua cada 24 h el día -1 y 3 mg / kg i.v. infusión continua cada 24 h hasta 2-3 días previos al egreso hospitalario. Posteriormente Ciclosporina neoral 3 mg / kg v.o. cada 12 h hasta el día + 180.

Metotrexate 15 mg / m² / i.v. el día + 1 y 10 mg / m² i.v. los días +3, +6 y +11.

ESQUEMA DE PROFILAXIS DE ENFERMEDAD POR CITOMEGALOVIRUS.

Aciclovir 500 mg / m² / día i.v. cada 8 h del día -8 al día de alta hospitalaria, posteriormente: 400 mg v.o. cada 8 h hasta el día +90.

El trasplante se realizará el día 0. La toxicidad se evaluará diariamente de acuerdo a los criterios de la OMS (anexo3) y los datos se captarán en las hojas de reporte de caso (anexo 7).

VIII. ANALISIS ESTADISTICO.

8.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA.

De acuerdo a la tabla para calcular tamaño de la muestra cuando se comparan índices de respuesta o eficacia (Gehan y Schneiderman, modificada por Cochran y Cox³⁸) con un poder de 80%, error alfa de 5% y valores de P de una cola, será necesario incluir 35 pacientes por cada grupo en trasplante autólogo (70 pacientes en total).

8.2 ANALISIS DE LOS DATOS.

8.2.1 ESTADISTICA DESCRIPTIVA.

A las variables cuantitativas que tengan una distribución normal (curtosis y distribución de Gauss) se les calculará: número, media, desviación estándar y valores mínimo y máximo. A las variables que no se cumplan los criterios de normalidad, se les calculará: número, mediana, cuartiles 1º y 3º y valores mínimo y máximo. Las variables cualitativas se describirán como frecuencias absolutas y relativas porcentuales.

8.2.2 ESTADISTICA ANALITICA.

A las variables de este estudio se les calculará el intervalo de confianza del 95% (error alfa de 5% $P < 0.05$). Las pruebas estadísticas realizadas serán de una cola. La comparación entre los dos grupos de tratamiento en el caso de las variables cualitativas, se utilizará por medio de la prueba exacta de Fisher, y cuando las variables sean cuantitativas, se utilizará la U de Mann-Withney. La probabilidad de EICHa y EICHc será calculada mediante las curvas de Kaplan y Meier y su comparación por la prueba de logaritmo de rangos. Para evaluar la correlación entre las variables de CMN, CD 34+ en sangre periférica y en el producto de las aféresis, se realizará coeficiente de correlación de Spearman después de transformar los valores en forma logarítmica. La correlación entre la cantidad de CMN, CD 34+ y el injerto se realizará por medio de la prueba de regresión logística.

8.2.3 ALEATORIZACION.

La aleatorización de cada paciente y de cada grupo se realizará por parte del investigador principal, basándose en las de aleatorización previamente elaboradas. (anexos 4 y 5). Se realizará análisis por separado de los grupos de Trasplante Autólogo y Trasplante Alogénico.

IX. ASPECTOS ETICOS.

Antes de iniciar el protocolo, este deberá ser aprobado por el Comité de Ética y el de Investigación del Hospital de especialidades Centro Médico Nacional La Raza, IMSS.

En cada caso será indispensable el consentimiento del paciente y de su donador, así como de un familiar y dos testigos, firmando en la hoja correspondiente y previa explicación el protocolo y de los riesgos o beneficios del mismo.

El investigador estará obligado a cumplir el protocolo de estudio, basándose en las normas de la declaración de Helsinki (anexo 6) y en las normas de buenas prácticas clínicas.

El investigador responsable y asociados, firmarán una copia del protocolo como prueba de su compromiso para llevarlo a efecto de la mejor manera posible.

X. FINANCIAMIENTOS Y COSTOS.

Para realizar el estudio se utilizará la infraestructura del Servicio de Hematología del HECMR, de su Unidad de Aféresis, Unidad de Criopreservación Celular, Laboratorio de Hematología Especial, Sección de Morfología.

Todos los medicamentos usados en el presente protocolo, se encuentran incluidos el Cuadro Básico de Medicamentos del IMSS y del Sector Salud, así mismo los reactivos de laboratorio para citometría de flujo.

A continuación se describe el costo global por paciente, de acuerdo a los datos proporcionados por el área de Contabilidad a la Jefatura del Servicio de Hematología del Hospital de Especialidades Centro Médico La Raza, IMSS.

COSTOS DE MOVILIZACION Y TRASPLANTE EN EL HOSPITAL

DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO LA RAZA

Rubro	Cantidad	Pesos
Hospitalización	30 días	\$ 30 000
Productos sanguíneos	4 PG, 5 PLT	\$ 37 000
Quimioterapia	Doble	\$ 41 000
Antibióticos	Triple	\$ 16 000
FEC-G (solo movilización)	10	\$ 20 000
Cirugía y NPT	2/1	\$16 000
Laboratorio y gabinete	40/5	\$ 17 000
Total		\$ 117 000

En hospitalización se incluye el día cama, atención médica, enfermería y servicios de mantenimiento y limpieza.

Los productos sanguíneos utilizados en un trasplante en promedio son: 3-4 concentrados eritrocitarios y 5 donadores de aféresis de plaquetas.

La quimioterapia incluye la quimioterapia de movilización y la de trasplante autólogo.

Los antibióticos incluyen antibacterianos, antivirales (Aciclovir) y antifúngicos.

Los factores estimulantes de colonias, son usados únicamente durante la movilización.

La Cirugía incluye colocación de un catéter de Mahurkar y otro de Hickman.

X. RESULTADOS.

Se revisaron 30 pacientes dividiéndose en dos grupos: al grupo 1, se le administro Ciclofosfamida-Factor estimulante de colonias (Cy-FEC-G), a dosis de 4 gr/m²/día y 16 µg/kg/día, incluyéndose a 20 pacientes (grupo control pareado), y al Grupo 2, se le administro Factor estimulante de colonias (FEC-G) a dosis de 16 µg/kg/día, incluyéndose a 10 pacientes de este grupo.

En el grupo 1, doce pacientes fueron masculinos y 8 femeninos; y en el grupo 2, ocho fueron masculinos y 2 femeninos, con una $p= 0.4$, (gráfica 1), con un rango de edad entre 19 y 59 años, con un promedio de 41.15 años, ($p= 0.4$), incluyéndose dentro de los padecimientos: en el grupo 1, pacientes con Linfoma No Hodgkin (LNH) (9 pacientes), Linfoma de Hodgkin (LH) (2 pacientes), Mieloma Múltiple (MM) (7 pacientes), Leucemia Granulocítica Crónica (LGV) (2 pacientes); en el grupo 2, LNH, 4 pacientes, LH, 2 pacientes ; MM, 2 pacientes y Leucemia Aguda (2 pacientes), como se observa en la gráfica 1 y 2.

La Fase en la que se encontraron al momento del trasplante, fueron las siguientes: en primera remisión 19 pacientes; en 2^a. remisión, 7 pacientes; en 3^a. remisión, un paciente y refractarios, tres pacientes, ($p=0.5$), (grafica 3) .

A veinte pacientes se les incluyo en el grupo de movilización, con Ciclofosfamida (Cy)-Factor estimulante de colonias (FEC-G) y a diez pacientes en el grupo de FEC-G.

Los regímenes de acondicionamiento, incluyeron el Mega BEAC (17 pacientes), con BEAM (9 pacientes), y en otros regímenes fueron 4 pacientes. Siete pacientes recibieron nutrición parenteral total y 23 pacientes no la necesitaron (gráfica 5). EL FEC-G, en el período de post-trasplante, lo recibieron 20 pacientes (grafica 6).

Los procesos infecciosos en el grupo del Cy-FEC-G, en 6 pacientes fue bacteriana, uno fue por Herpes Zoster, uno por Candida Albicans y otro por Aspergillus. Del grupo con FEC-G, cinco pacientes no presentaron proceso infeccioso, en cuatro pacientes el origen fue bacteriano y en uno fue por Candida Albicans, ($p= 0.9$), grafica 7.

La enfermedad Venó-oclusiva Hepática, se documentó en dos pacientes, del grupo de movilización con FEC-G, siendo uno leve y otro moderado (grafica 8), y en ninguno del grupo Cy-FEC-G. D. Dentro del grupo de Cy-FEC-G, dos pacientes presentaron mucositis en Grado 1, cinco pacientes en Grado II, cuatro pacientes en Grado III y un paciente fue catalogado como Grado IV. Dentro del Grupo FEC-G, tres pacientes fueron Grado II y 4 pacientes fueron Grado III (grafica 9).

La Cistitis como complicación, no se presentó en ningún paciente de los dos grupos (gráfica 10). En relación a la toxicidad, producida por el esquema de movilización, sólo se observó en el grupo con Cy-FEC-G, la náusea y vómito en 6 pacientes, cistitis en 2, e infección en 2, en el grupo del FEC-G no se documentó toxicidad, (gráfica 11).

La media de CMN $\times 10^8/\text{kg}$, para el grupo de Cy-FEC-G, fue de 4.03, con un rango entre 1.3 y 10.2, y para el grupo de FEC-G, la media fue de 2.87, y el rango fue de .5 a 5.7, con una $p=0.1$. En relación a la cantidad de células CD 34 $\times 10^6/\text{kg}$, en el grupo

de Cy-FEC-G el rango fue entre 1.0 y 27.2, con un promedio de 6.48; en el grupo de FEC-G, el rango fue entre 1.3 y 8.8 con un promedio de 4.38, ($p=0.3$).

El injerto de leucocitos en el grupo de Cy-FEC-G, se observaron en promedio a los 12.53 días, con un rango entre 8 y 24 días y en el grupo de FEC-G, el promedio fue de 12.6, con un rango entre 9-18, ($p=0.9$). El injerto de glóbulos rojos en el grupo de CY-FEC-G.

Fue en promedio de 14 días, con un rango de 9 a 27 días, y en el otro grupo fue de 14.5 días con un rango entre 12-18 días ($p=0.8$). El injerto de plaquetas, en el grupo de Cy-FEC-G, fue de 12.73 días, con un rango entre 5.34 días, y en el otro grupo fue de 12.63 días, con un rango entre 6-21 días.

El intervalo entre el Diagnóstico y el trasplante de médula ósea, en el grupo de Cy-FEC-G, fue de 15.5 meses, con un rango de 7-34 meses, en el grupo de FEC-G, fue de 22.9 meses, con un rango entre 5 y 82 meses ($p=0.1$). El intervalo de QT aféresis, en el grupo de Cy-FEC-G, fue de 11.5 días, con un rango entre 9 y 19 días, y en el otro grupo fue de 5.5 días, con un rango entre 4 y 11 días, con una $p < 0.0003$.

En relación a los días de aplasia, producido por el esquema de movilización, en el grupo de Cy-FEC-G fue de 5.3 días, con un rango de 0-11 días, y en el grupo de FEC-G fue de 0, con una $p < 0.0003$.

El número de dosis de FEC-G en el grupo de Cy-FEC-G, fue de 14, con un rango entre 11-18 y para el otro grupo fue de 16.6, con un rango entre 7 y 30, con una $p=0.1$.

Los ciclos de quimioterapia previa para el grupo de Cy-FEC-G, fue de 8.4, con un rango entre 4 y 19, para el grupo de FEC-G, fue de 11.1, con un rango entre 6 y 18, ($p=0.03$).

Los días de fiebre durante la movilización en el grupo de Cy-FEC-G fue de 3.1 días, con un rango entre 0 y 9 días, para el grupo de FEC-G, fue de 1.4 días, con un rango entre 0 y 5 días, con una $p=0.09$.

Los días de antibiótico durante la movilización para el grupo de Cy-FEC-G fue de 5.9 días, con un rango entre 0 y 13 días, y para el grupo de FEC-G, fue de 0, con una $p<0.003$.

El número de concentrados eritrocitarios utilizados durante la movilización en el grupo de Cy-FEC-G, fue de 0.15, con un rango entre 0 y 2, y para el otro grupo fue de 0 con una $p<0.003$.

El número de concentrados plaquetarios utilizados durante la movilización en el grupo de Cy-FEC-G fue de 0.50, con un rango entre 0 y 3, y para el grupo de FEC-G fue de 0, con una $p < 0.003$.

En relación al análisis de la sobrevida libre de evento, el tiempo de sobrevida para el grupo de Cy-FEC-G fue de 17.6 meses, con un IC 95% (11.0, 24.3); y para el grupo de FEC-G, fue de 60.7 meses, con un IC 95% (35.0, 86.5), con una $p=0.6$.

Por otra parte en relación a la sobrevida global, para el grupo de Cy-FEC-G, el tiempo medio de sobrevida fue de 30.9 meses, con un IC 95% (23.2, 38.5); con una $p=0.6$, como se observa en las gráficas.

XI. DISCUSION.

El trasplante de células hematopoyéticas autólogo, es una arma terapéutica eficaz, para el tratamiento de varias patologías, en el presente estudio, se revisaron 30 pacientes, los cuales fueron sometidos a dos regímenes de acondicionamiento, uno con Cy-FEC-G y otro

exclusivamente con FEC-G, con la finalidad de comparar los ciclos mencionados, observándose diferencias estadísticamente significativas, en relación a la toxicidad, procesos infecciosos, transfusiones, así como en el intervalo de quimioterapia-uso de aféresis y en los días de aplasia por movilización.

Por otra parte en el grupo sometido a FEC-G, no se utilizaron antibióticos durante la movilización, ($p= 0.003$); así como tampoco fue necesario la utilización de apoyo transfusional de concentrados eritrocitarios y de concentrados plaquetarios, con una $p < 0.003$.

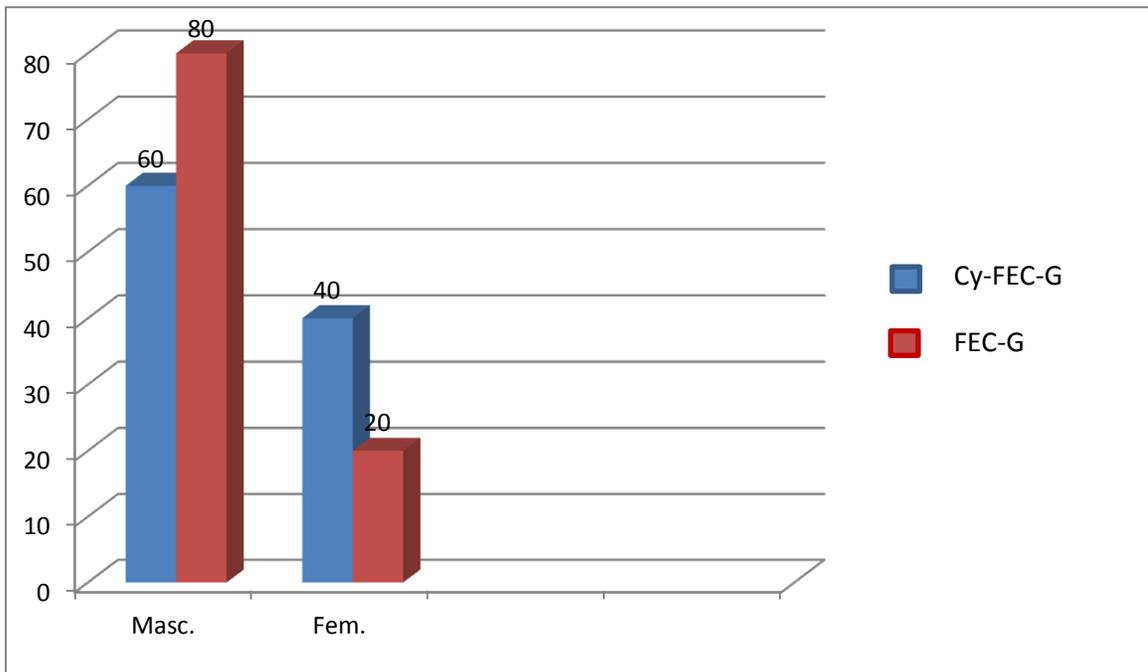
En base a los resultados obtenidos y en los reportes de la literatura podemos observar que la movilización de células hematopoyéticas a sangre periférica con FEC-G sin quimioterapia puede producir resultados similares a quimioterapia más FEC-G, en cuanto a obtención de células mononucleares y de células CD 34, así como en la sobrevida libre de evento y sobrevida global como se observa el estudio actual, aunque sin significado estadístico ($p= 0.6$), con las ventajas de menor toxicidad y menos procesos infecciosos, y por lo tanto con menos días de hospitalización, así como menor uso de antibióticos y que se traduce por lo tanto en menor costo para las Instituciones Hospitalarias.

Por otra parte cabe mencionar que el presente estudio tiene una población reducida ya que sólo incluye a 30 pacientes, y que es necesario ampliar el número de enfermos sometidos a éste procedimiento, para obtener resultados más concluyentes y a largo plazo.

Grafica No. 1

Movilización por sexo.

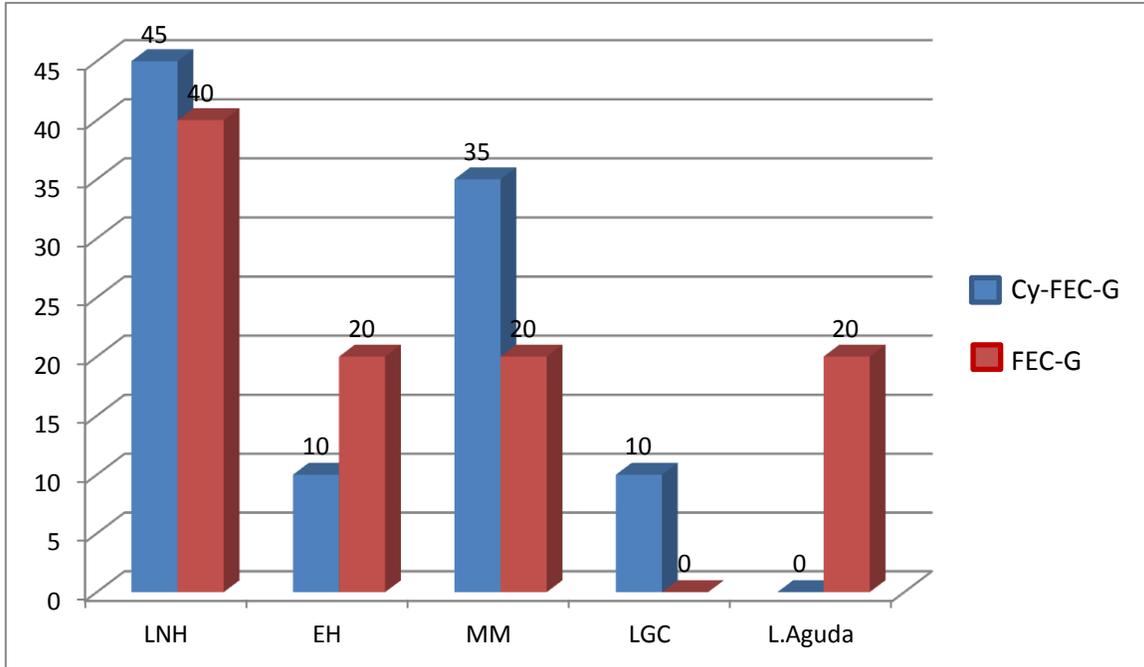
Porcentaje



GRAFICA No. 2

POR ENFERMEDAD.

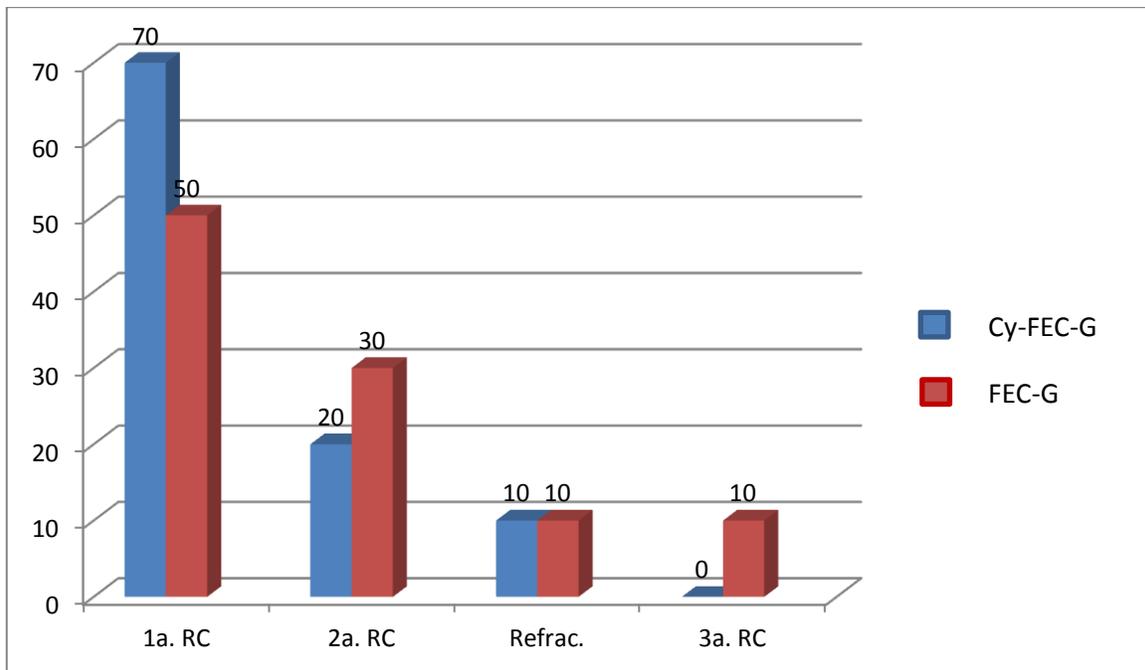
Porcentaje



Grafica No.3

Fase al TMO

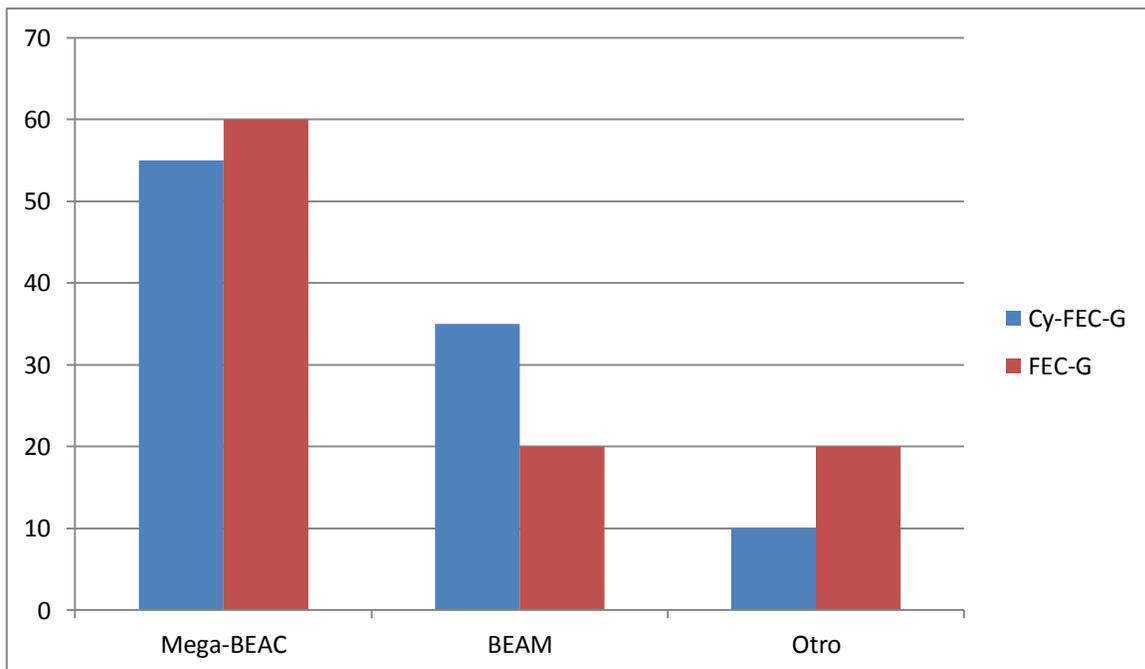
Porcentaje



Grafica No.4

Acondicionamiento

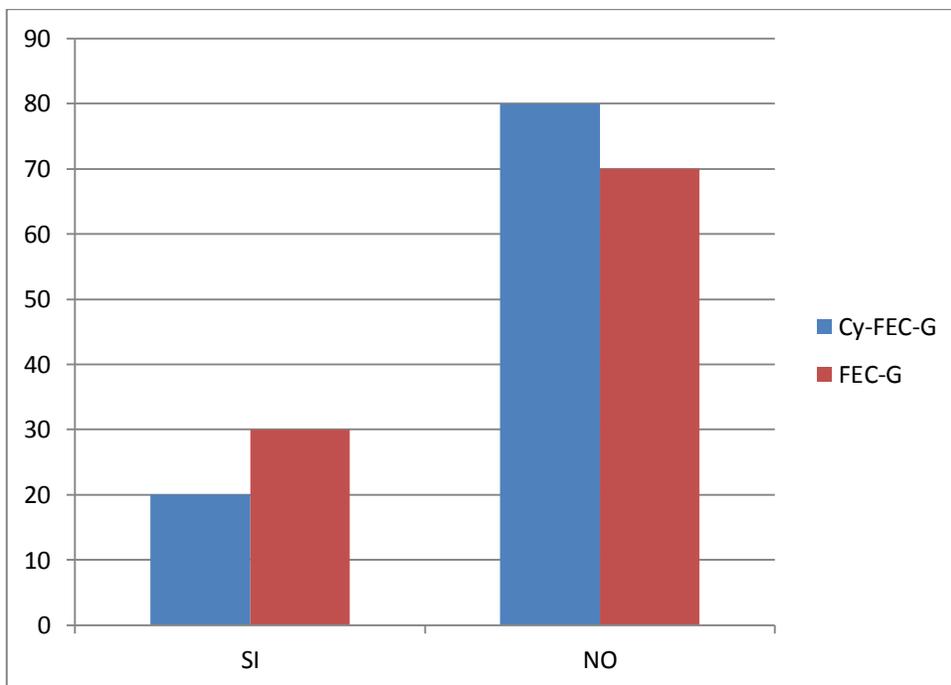
Porcentaje



Grafica No.5

Nutrición Parenteral Total.

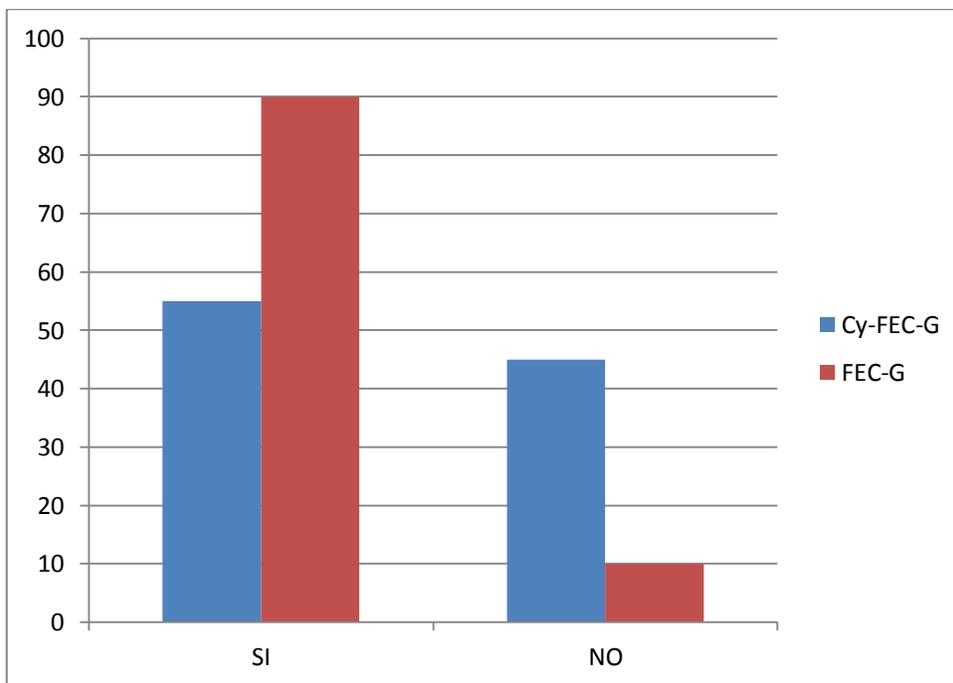
Porcentaje



Grafica No.6

FEC-G Post-TMO

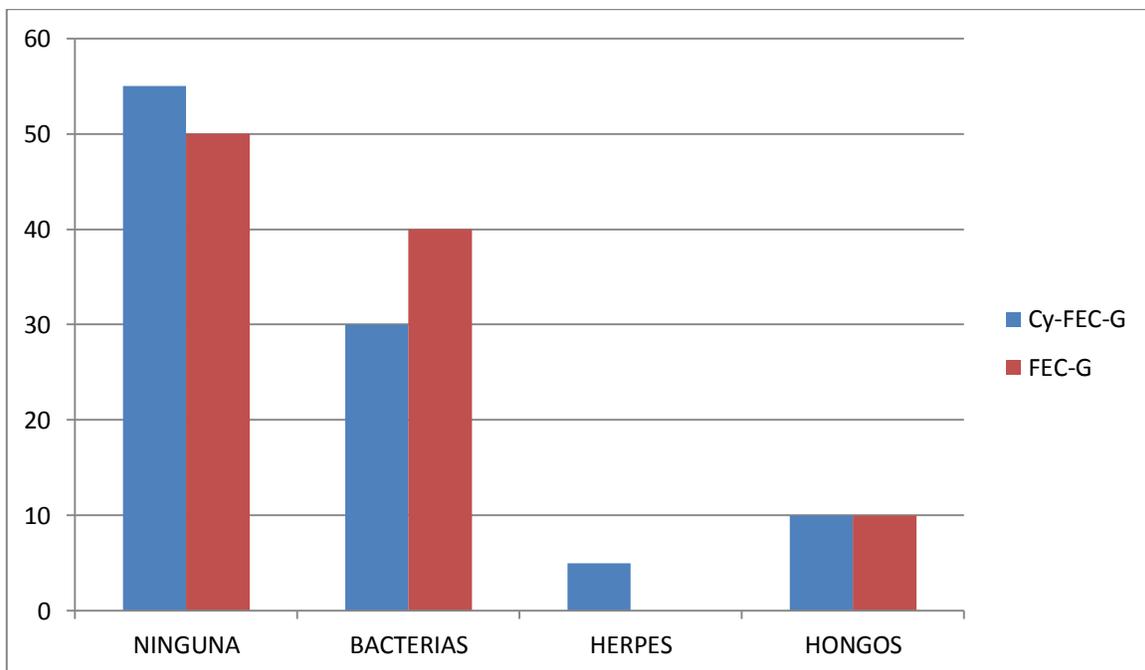
Porcentaje



Grafica No.7

Infección

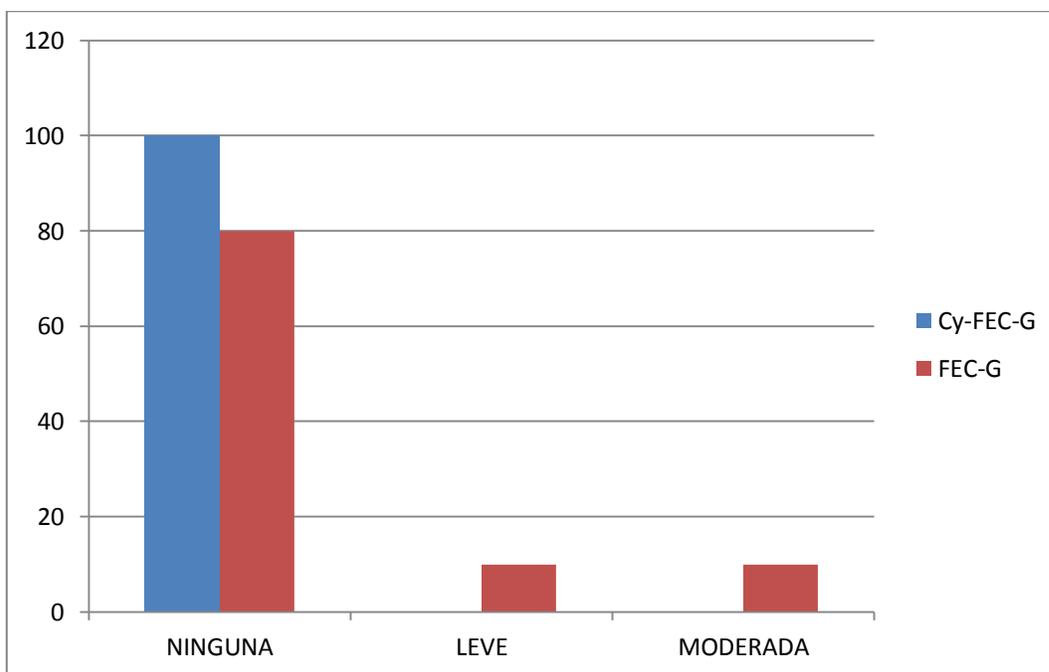
Porcentaje



Grafica No.8

Enfermedad Venoso-Oclusiva

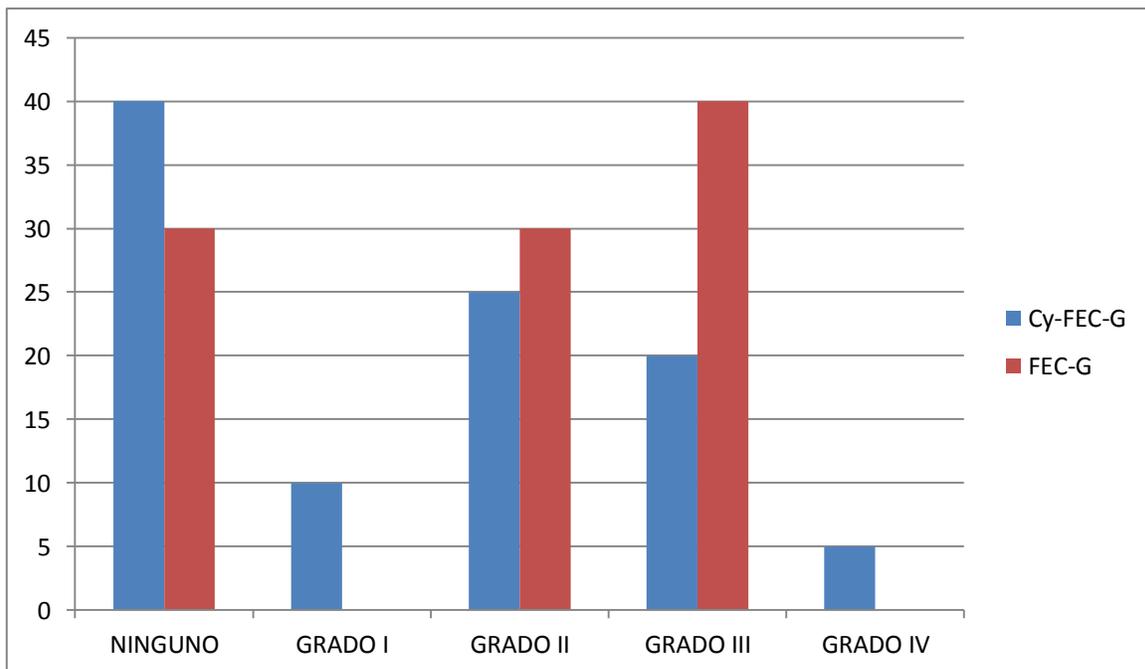
Porcentaje



Grafica No.9

Mucocitis

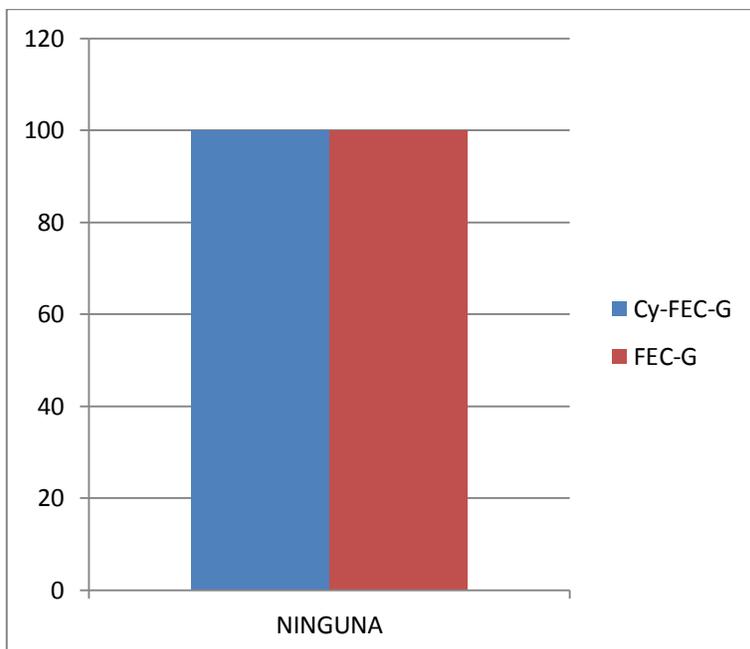
Porcentaje



Grafica No.10

Cistitis

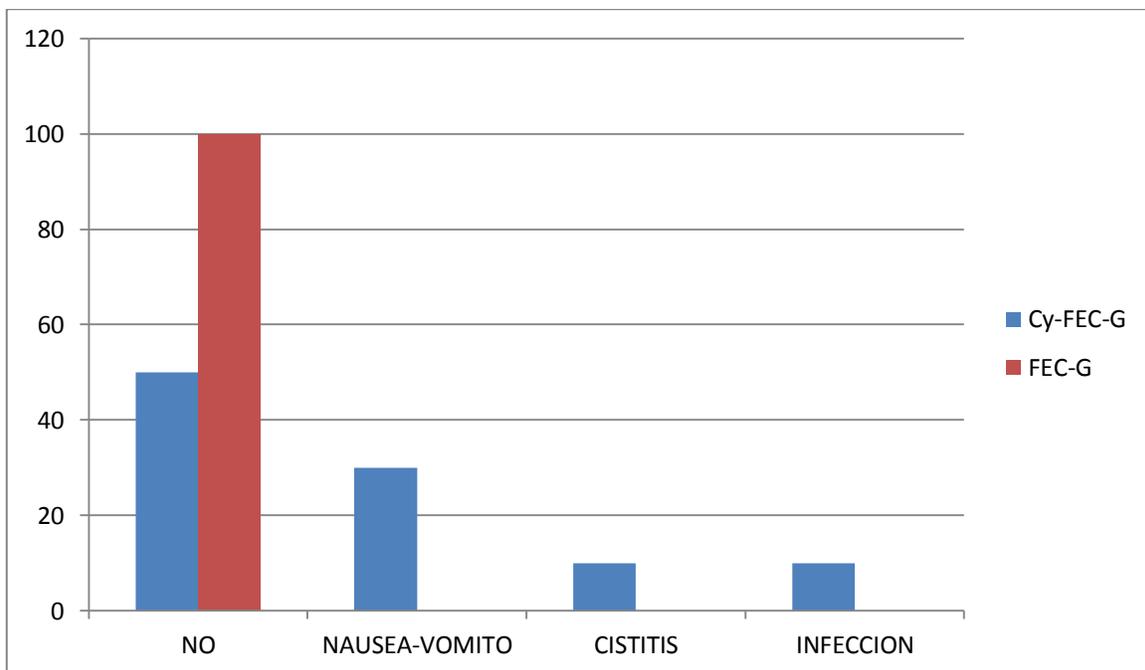
Porcentaje



Grafica No.11

Toxicidad

Porcentaje



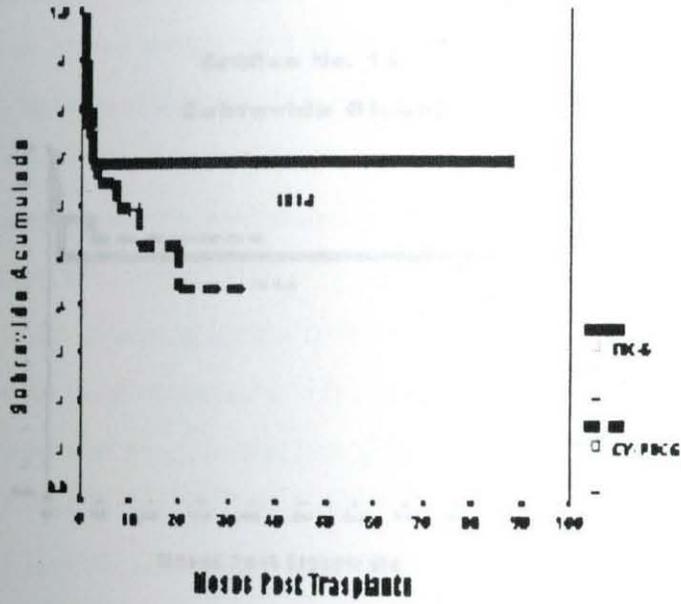
GRAFICA No. 12
DATOS ESTADISTICOS.

MOVILIZACION

Cy-FEC-G	Edad	N	Minimo	Maximo	Promedio	Desv.Estandar
	CMN X10 ⁸ /Kg	20	19	59	41.15	12.93
	CD34 x10 ⁶ /kg	20	1.3	10.2	4.031	2.596
	Injerto Leucocitos	20	1	27.2	6.484	6.678
	Injerto Glob.rojos	15	9	27	14.2	4.11
	Injerto Plaquetas	15	5	34	12.73	6.84
	Conc. Eritroc.Post-TMO	19	0	6	1.42	1.71
	Conc.Plaq. Post-TMO	18	0	8	3.39	2.09
	Intervalo Dx. TMO	20	7	34	15.5	8.09
	Intervalo QT-Aféresis	20	9	19	11.55	2.16
	No. De Aféresis	20	3	6	3.5	0.95
	Días de Aplasia	20	0	11	5.35	2.21
	Dosis de FEC (moviliz.)	20	11	18	14	1.69
	Ciclos de QT	20	4	19	8.4	3.97
	Dias fiebre(movilizacion)	20	0	9	3.15	2.6
	Dias antibiotico(moviliz.)	20	0	13	5.95	4.47
	Conc. Eritroc. (moviliz.)	20	0	2	0.15	0.49
	Conc. Plaq. (moviliz.)	20	0	3	0.5	1.05
FEC-G	CMN X10 ⁸ /Kg	10	22	65	38.6	13.37
	CD34 x10 ⁶ /kg	10	0.5	5.7	2.807	1.672
	Injerto Leucocitos	8	1.3	8.8	4.385	2.694
	Injerto Glob.rojos	9	9	18	12.67	3.16
	Injerto Plaquetas	9	12	18	14.56	1.88
	Conc. Eritroc.Post-TMO	8	6	21	12.63	4.9
	Conc.Plaq. Post-TMO	10	0	6	2.1	2.08
	Intervalo Dx. TMO	10	3	20	5.7	5.12
	Intervalo QT-Aféresis	10	5	82	22.9	21.52
	No. De Aféresis	7	4	11	5.57	2.44
	Días de Aplasia	8	2	6	3.13	1.55
	Dosis de FEC (moviliz.)	7	0	0	0	0
	Ciclos de QT	9	7	30	16.67	6.93
	Dias fiebre(movilizacion)	8	6	18	11.88	3.52
	Dias antibiotico(moviliz.)	7	0	5	1.43	1.00
	Conc. Eritroc. (moviliz.)	7	0	0	0	0
	Conc. Plaq. (moviliz.)	7	0	0	0	0

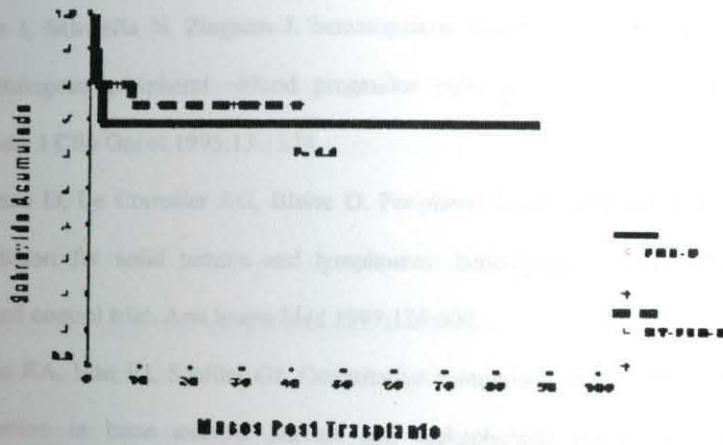
Gráfica No. 13

Sobrevida Libre de Enfermedad



Gráfica No. 14

Sobrevida Global



XI. BIBLIOGRAFIA.

1. Lennard AI, Jackson GH. Stem Cell Transplantation. *BMJ* 2000;433-437.
2. Smith TJ, Hilner BE, Schmitz N, Economic analysis of a randomized clinical trial to compare filgrastim-mobilized peripheral-blood progenitor-cell transplantation and autologous bone marrow transplantation in patients with Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma, *J Clin Oncol* 1997;15:5.
3. Beyer J, Schwella N, Zingsem J. hematopoietic rescue after high-dose chemotherapy using autologous peripheral –blood progenitor cells or bone marrow: a randomized comparasion. *J Clin Oncol* 1995; 13:1328.
4. Hartman O, Le Corroller AG, Blaise D. Perpheral blood stem cell and bone marrow transplantation for solid tumors and lymphomas: hematologic recovery and costs – a randomized control trial. *Ann Intern Med* 1997;126:600.
5. Vescio RA, Han EJ, Schiller GJ. Quantitative comparasion of multiple myeloma tumor contamination in bone marrow harvest and leukapheresis autografts. *Bone Marrow Transplant* 1996;18:103-110.
6. Talmadge JE, Reed E, Ino K. Rapid imunologic reconstitution following transplantation with mobilized peripheral blood stem cells as compared to bone marrow. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:161-172.

7. Rosenfeld CS, Shaddock RK, Zeigler ZR. Cyclophosphamide-mobilized peripheral blood stem cells in patients with lymphoid malignancies. *Bone Marrow Transplant* 1995;15:433-438.
8. Goldschmidt H Hegenbart U, Haas R. Mobilization of peripheral progenitor cells with high-dose Cyclophosphamide (4 or 7 g/m²) and granulocyte colony-stimulating factor in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 1996;17:691-697.
9. Vela-Ojeda J, Tripp-Villanueva F, Montiel-Cervantes L. Prospective randomized clinical trial comparing high-dose ifosfamide + GM-CSF vs high-dose cyclophosphamide + GM-CSF for blood progenitor cell mobilization. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:1141-1146.
10. Duhren U, Villeval JL, Boyd J. Effects of recombinant human granulocyte colony stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood*;72:2074-2081.
11. Socinsky MA, Cannistra SA, Elias A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expands the circulating hematopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988;1:1194-1198.
12. Ottman OG, Ganser A, Seipelt G. Effects of human recombinant interleukin-3 on human hematopoietic progenitor and precursor cells in vivo, *Blood* 1990;76:1494-1502.
13. Weaver A, Testa NG. Stem cell factor leads to reduced blood processing during apheresis or the use of whole blood to support dose-intensive chemotherapy. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:33-38.

14. Alegre A, Tomás JF, Martínez Chamorro C. Comparison of peripheral blood progenitor cell mobilization in patients with multiple myeloma: high-dose cyclophosphamide plus GM-CSF vs G-CSF alone. *Bone Marrow Transplant* 1997;20:22-217.
15. Triozzi PI, Tucker F, Benzies T. Antitumor and accessory immune activities of peripheral blood stem cells mobilized with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Bone Marrow Transplant* 1996;18:47-52.
16. Gyger M, Stuart RK, Perreault C. Immunobiology of allogenic peripheral blood mononuclear cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:1-16.
17. Lemoli RM, Tafuri A, Fortuna A. Cycling status of CD34+ cells mobilized into peripheral blood of health donors by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1997;89:1189-1196.
18. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) dose dependent efficacy in peripheral blood stem cell mobilization in patients who had failed initial mobilization with chemotherapy and G-CSF. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:853-857.
19. Schmitz N, Dreger P, Storp M. Primary transplantation of allogenic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor). *Blood* 1995;85:1666.
20. Schmitz N, Bacigalupo A, Hasenclever D. Allogenic bone marrow transplantation vs filgrastim-mobilized peripheral blood progenitor cell transplantation in patients with early leukemia: first results of a randomised multicentre trial of the European Group for blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow transplant* 1998;21:995.
21. Anderlini P, Korbling M, Dale D. Allogenic blood stem cell transplantation: considerations for donors. *Blood* 1997;90:903.

22. Urbano-Ispuza A, García-Conde J, Brunet S. High incidence of chronic graft versus host disease after allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation. The Spanish Group of Allo-PBPCT. *Haematologica* 1997;82:683.
23. Shmitz N, Bacigalupo A, Labopin M. Transplantation of peripheral blood progenitor cells from HLA-identical sibling donors. European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol* 1996;95:715.
24. Champlin RE, Shmitz N, Horowitz M. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. *Blood* 2000;95:3702-3709.
25. Besinger WI, Martin PJ, Storer B. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med* 2001;344:175-181.
26. Lane TA, Law P, Maruyama M. Harvesting and enrichment of hematopoietic progenitor cells mobilized into the peripheral blood of normal donors by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) or G-CSF: potential role in allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1995;85:275-282.
27. Sica S, Rutella S, di Mario A. RhG-CSF in healthy donors: mobilization of peripheral hemopoietic progenitors and effect on peripheral blood leukocytes. *J Hematother* 1996;5:391-397.
28. Arbona C, Prosper F, Benetl. Comparison between once a day vs twice a day G-CSF for mobilization of peripheral blood progenitor cells (PBPC) in normal donors for allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:39-45.

29. Anderlini P, Donato M, Lauppe M. A comparative study of once-daily versus twice-daily filgrastim administration for the mobilization and collection of CD34+ peripheral blood progenitor cells in normal donors. *Br J Haematol* 2000;109:770-772.
30. Kröger N, Zeller W, Hassan HT. Stem cell mobilization with G-CSF alone in breast cancer patients: Higher progenitor cell yield by delivering divided doses (2x5 mcg/kg) compared to a single dose (1x10 mcg/kg). *Bone Marrow Transplant* 1999;23:125-129.
31. Chapple P, Prince HM, Quinn M. Peripheral blood CD34+ cell count reliably predicts autograft yield. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:125-130.
32. Arena GD, Musto P, Cascavilla N. Circulating CD34+ absolute cell number is the best single parameter to predict the quality of leukapheresis yield. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:215-216.
33. Schots R, Van Riet I, Damiaens S. The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of Hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant* 1994;13:479-485.
34. Bender JG, Lum L, Unverzagt KL. Correlation of colony-forming cells, long-term culture initiating cells and CD34+ cells in apheresis products from patients mobilized for peripheral blood progenitors with different regimens. *Bone Marrow Transplant* 1994;13:479-485.
35. Hollingshead LM, Gia KL. Recombinant granulocyte colony stimulating factor (rG-CSF): a review of its pharmacologic properties and prospective role in neutropenic conditions. *Drugs* 1991;42:300-330.
36. AMA Council Report. Guidelines for handling parenteral antineoplastics. *JAMA* 1985;253:1590-1592.
37. Brock N. Oxazaphosphorine cytostatics: past-present-future. *Cancer Res* 1989;49:-7.
38. Dixon DO. Sample size for clinical studies. *Cancer Bull* 1980;32(6):207-213.