

Fatores que afetam a coleta de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico por leucaférese de grande volume: experiência de um único centro

Factors affecting autologous peripheral blood hematopoietic stem cell collections by large-volume leukapheresis: a single center experience

Araci Massami Sakashita¹, Andrea Tiemi Kondo¹, Andreza Alice Feitosa Ribeiro², Andrea Neri Folchini Cipolletta¹, Monica Vilela Colesanti¹, Nelson Hamerschlak³, Jose Mauro Kutner⁴

RESUMO

Objetivo: Avaliar fatores que afetam o rendimento da coleta em pacientes submetidos à leucaférese de grande volume para obtenção de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico para autotransplante. **Métodos:** Análise retrospectiva de 304 doadores de células-tronco hematopoiéticas de sangue periférico para autotransplante submetidos à mobilização com fator de crescimento hematopoiético (geralmente G-CSF), associado ou não à quimioterapia, no Hospital Israelita Albert Einstein, de Fevereiro de 1999 a Junho de 2010. O objetivo da coleta foi obter pelo menos 2×10^6 CD34+ células/kg peso. Os fatores pré-mobilização incluíam idade, sexo e diagnóstico do paciente. Os parâmetros pós-mobilização avaliados foram contagem de leucócitos, células imaturas, células mononucleares, células CD34+, plaquetas e nível de hemoglobina no sangue periférico. O efeito desses fatores no rendimento da coleta de CTH foi investigado por meio de regressão logística (análise univariada e multivariada). **Resultados:** A análise univariada revelou os seguintes fatores pré-mobilização estatisticamente significantes: diagnóstico de leucemia mieloide aguda ($p = 0,017$) e outras doenças hematológicas ($p = 0,023$), células imaturas circulantes ($p = 0,001$), granulócitos ($p = 0,002$), nível de hemoglobina ($p = 0,016$) e contagem de células CD34+ no sangue periférico ($p < 0,001$) no primeiro dia de coleta. Entretanto, só a contagem de células CD34+ no sangue periférico manteve-se associada de forma significativa ao rendimento ruim da coleta de células-tronco hematopoiéticas na análise multivariada. **Conclusão:**

Neste estudo, a contagem de células CD34+ no sangue periférico foi o único fator significativamente associado ao rendimento da coleta de células-tronco hematopoiéticas com leucaférese de grande volume para autotransplante.

Descritores: Células-tronco hematopoiéticas; Mobilização; Leucaférese; Coleta de amostras sanguíneas/métodos; transplante autólogo

ABSTRACT

Objective: To evaluate factors affecting peripheral blood hematopoietic stem cell yield in patients undergoing large-volume leukapheresis for autologous peripheral blood stem cell collection.

Methods: Data from 304 consecutive autologous peripheral blood stem cell donors mobilized with hematopoietic growth factor (usually G-CSF), associated or not with chemotherapy, at Hospital Israelita Albert Einstein between February 1999 and June 2010 were retrospectively analyzed. The objective was to obtain at least 2×10^6 CD34+ cells/kg of body weight. Pre-mobilization factors analyzed included patient's age, sex and diagnosis. Post mobilization parameters evaluated were pre-apheresis peripheral white blood cell count, immature circulating cell count, mononuclear cell count, peripheral blood CD34+ cell count, platelet count, and hemoglobin level. The effect of pre and post-mobilization factors on hematopoietic stem cell collection yield was investigated using

Trabalho realizado no Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE, São Paulo (SP), Brasil.

¹ Hemoterapia, Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil.

² Banco de Sangue, Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil; Hematologia e Transplante de Medula Óssea, Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil.

³ Hematologia e Transplante de Medula Óssea, Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Banco de Sangue, Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil.

Autor correspondente: Araci Massami Sakashita – Banco de Sangue do Hospital Israelita Albert Einstein – Avenida Albert Einstein, 627, 4º andar – Morumbi – CEP 05651-901 – São Paulo (SP), Brasil – Tel.: (11) 2151-0444 – E-mail: aracims@einstein.br

Data de submissão: 1/12/2010 – Data de aceite: 5/4/2011

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

logistic regression analysis (univariate and multivariate approaches). **Results:** Pre-mobilization factors correlating to poor CD34+ cell yield in univariate analysis were acute myeloid leukemia ($p = 0.017$) and other hematological diseases ($p = 0.023$). Significant post-mobilization factors included peripheral blood immature circulating cells ($p = 0.001$), granulocytes ($p = 0.002$), hemoglobin level ($p = 0.016$), and PB CD34+ cell concentration ($p < 0.001$) in the first harvesting day. However, according to multivariate analysis, peripheral blood CD34+ cell content ($p < 0.001$) was the only independent factor that significantly correlated to unsuccessful hematopoietic stem cell yield. **Conclusion:** In this study peripheral blood CD34+ cell concentration was the only factor significantly correlated to hematopoietic stem cell yield in patients submitted to large-volume leukapheresis for autologous peripheral blood stem cell collection.

Keywords: Hematopoietic stem cells; Mobilization; Leukapheresis; Blood specimen collection/methods; Transplantation, autologous

INTRODUÇÃO

Quimioterapia em altas doses, associada à coleta de células-tronco hematopoiéticas (CTH), vem sendo utilizada com sucesso no tratamento de várias doenças malignas e não malignas⁽¹⁾. Células-tronco mobilizadas no sangue periférico (CTHSP) tornaram-se a fonte preferencial para transplante autólogo⁽²⁾. As vantagens das CTHSP comparadas às das células-tronco de medula óssea incluem uma recuperação hematopoiética mais rápida e melhor reconstituição imunológica, com um processo de coleta relativamente fácil⁽³⁾.

A obtenção de enxertia rápida e mantida depende do número de CTH infundidas. Uma associação significativa entre o total infundido de células CD34+ e boa recuperação hematológica tem sido descrita na literatura, indicando que a coleta de um número adequado dessas células é fator-chave para o sucesso da enxertia⁽⁴⁾. Dados de literatura corroboram que enxertia consistente ocorre em pacientes que receberam pelo menos 2×10^6 CD34+/kg peso^(5,6).

As estratégias clássicas de mobilização de CTHSP incluem a administração de fator de crescimento hematopoético (G-CSF), isoladamente ou em combinação com quimioterapia mielossupressora, ou outras citocinas^(2,7-10). CTHSP para auto-transplante são geralmente colhidas por leucaférese durante a fase de recuperação hematológica pós quimioterapia e/ou administração de agentes mobilizadores. Entretanto, a cinética da concentração de células CD34+ no sangue periférico varia de um paciente para outro e conforme o esquema de quimioterapia utilizado⁽⁷⁾. O momento de início da coleta após a mobilização é crucial para otimizar o rendimento de CTHSP. Fatores preditivos sugeridos para o início da leucaférese incluem a contagem de leucócitos, células mononucleares, pla-

quetas e células CD34+ no sangue periférico^(6,7,11). A contagem de células CD34+ no sangue periférico no primeiro dia de coleta ≥ 10 a $20 \times 10^3/\text{mL}$ é o marcador indireto mais utilizado para iniciar a coleta de CTHSP⁽¹²⁾.

O esquema adequado para a coleta de CTHSP ainda não está definido. O procedimento padrão ou leucaférese de volume normal (LVN) geralmente processa 2,5 a 3 vezes o volume sanguíneo total do paciente (VST), enquanto na leucaférese de grande volume (LGV), processa-se 3 a 6 vezes o VST do paciente. A LGV é considerada estratégia segura e eficaz para otimizar o rendimento da coleta de CTHSP, especialmente em pacientes com baixa contagem de CD34+ no sangue periférico⁽¹³⁻¹⁸⁾.

Infelizmente, de 5 a 40% dos pacientes submetidos a coleta de CTHSP não conseguem atingir a dose de 2×10^6 CD34+ células/kg numa única tentativa de mobilização. Esses pacientes são chamados “mau mobilizadores”. A identificação de fatores que afetam o rendimento de CTHSP tem sido objeto de vários estudos. Idade e sexo do paciente, intervalo desde o último tratamento quimioterápico, comprometimento de medula óssea, diagnóstico e estadiamento clínico da doença, irradiação prévia, número e esquemas quimioterápicos prévios e febre de origem desconhecida foram associados a má mobilização de CTHSP. Entretanto, até o momento não há fatores específicos que identifiquem um “mau mobilizador”^(7,19-20).

OBJETIVO

Avaliar fatores que afetam o rendimento de CTHSP em análise retrospectiva de pacientes submetidos a LGV para a coleta de CTHSP para auto transplante.

MÉTODOS

Os dados de 304 doadores consecutivos de CTHSP mobilizados com G-CSF, associado ou não à quimioterapia, no Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE) entre Fevereiro de 1999 e Junho de 2010, foram analisados de forma retrospectiva. A mobilização de CTHSP incluiu três esquemas: 4 g/m^2 de ciclofosfamida associada a G-CSF (Granulokine, Roche, Reinach, Suíça) 10 mg/kg peso corpóreo; G-CSF 10 mg/kg peso corpóreo; ou quimioterapia específica para a doença, seguido de estimulação diária com G-CSF 10 mg/kg peso corpóreo.

Após mobilização com quimioterapia, hemograma completo foi realizado diariamente e a determinação de células CD34+ no sangue periférico quando a leucometria atingia ≥ 1.000 células/mL. Nos pacientes mobilizados só com fator de crescimento, hemograma e

contagem de células CD34+ foram realizados a partir do quarto dia de administração de G-CSF. A coleta de CTHSP foi iniciada com a contagem de células CD34+ do sangue periférico acima de 10 células/mL.

Leucaférese para coleta de CTHSP foi realizada através de um separador de células de fluxo contínuo (Spectra, Caridian BCT, Lakewood, CO, EUA) com protocolo auto-PBSC ou MNC. Coletas diárias foram realizadas com o objetivo de atingir o alvo de $\geq 2 \times 10^6$ CD34+ células/kg peso corpóreo para cada paciente. LGV com o processamento de quatro vezes o VST do paciente foi utilizada para otimizar o rendimento de CD34+ por procedimento. Um cateter venoso central foi inserido quando o paciente não apresentava acesso venoso com calibre adequado para a coleta por aférese. A anticoagulação do circuito extracorpóreo foi feita com solução de citrato de sódio (ACD-A), numa proporção que variou de 1:13 a 1:16. Todos os pacientes receberam reposição profilática de cálcio e potássio durante a leucaférese. Os produtos celulares coletados foram congelados em dimetilsulfóxido (DMSO) e armazenados em nitrogênio líquido ou em um freezer mecânico abaixo de -1300°C .

O total de células CD34+ foi determinado no sangue periférico e no produto da leucaférese por citometria de fluxo, como descrito anteriormente⁽²¹⁾. Resumidamente, células mononucleares foram coradas com anti-CD34+ conjugado com ficoeritrina (anti-HPCA 2) e contracoradas com anti-CD45 conjugado com isotiocianato de fluoresceína. As células foram analisadas por classificação ativada por fluoresceína (Coulter® Epics XL-MCL™ Flow Cytometer, Beckman Coulter, Brea, CA, EUA). Para cada amostra, analisamos 100.000 eventos.

O objetivo da coleta foi obter pelo menos 2×10^6 CD34 células/kg peso corporal. Desta forma, a coleta foi considerada bem sucedida quando este alvo foi atingido com até três LGV consecutivas. Os fatores pré-mobilização analisados incluíam idade e sexo do paciente, além do diagnóstico. Os parâmetros pós-mobilização avaliados foram: contagem pré-aférese de leucócitos, células imaturas circulantes, células mononucleares e células CD34+ no sangue periférico, além de contagem de plaquetas e nível de hemoglobina.

Todos os dados foram analisados por meio do programa estatístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Chicago, IL, EUA). Análise de regressão logística com abordagem uni e multivariada foi utilizada para avaliar os efeitos dos fatores pré e pós-mobilização sobre a eficiência da coleta de CTHSP. As variáveis $p < 0,10$ na análise univariada foram incluídas na multivariada. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

No período do estudo, 304 pacientes foram submetidos a 312 tentativas de mobilização. Os dados demográficos dos pacientes estão descritos na tabela 1. A LGV foi feita em 283 adultos e em 21 pacientes pediátricos, com idade média de 46 anos (variação de 3 a 73 anos). O grupo de pacientes com linfoma incluía 95 com linfoma não Hodgkin e 19 com doença de Hodgkin recidivada. Esclerose múltipla foi o diagnóstico mais prevalente entre os pacientes com doença autoimune. Outras doenças onco-hematológicas incluíam leucemia aguda que não leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia crônica e síndrome mielodisplásica.

Tabela 1. Características clínicas de doadores de células-tronco hematopoéticas de sangue periférico para auto transplante

Número de pacientes	304
Idade (anos)*	46 \pm 16 (3-73)
Sexo	
Masculino	176 (58%)
Feminino	128 (42%)
Diagnóstico	
Linfoma	114 (38%)
Mieloma múltiplo	68 (22%)
Doença autoimune	37 (12%)
Leucemia mieloide aguda	33 (11%)
Tumor sólido	31 (10%)
Outras doenças hematológicas	21 (07%)
Peso (kg)*	73 \pm 96 (13-143)
Volume sanguíneo total (mL)*	4.578 \pm 1.023 (927-7.714)

* média \pm desvio padrão (variação)

Foi realizado um total de 573 LGV, com média de 2 (variação de 1 a 8) leucaféreses por paciente. O alvo de CTH ($\geq 2 \times 10^6$ CD34+ células/kg peso corpóreo) foi obtido em 275/312 (88%) tentativas de mobilização. Desta forma, em 37/312 (12%) desses ciclos de mobilização o alvo não foi atingido. A incidência de rendimento baixo de CTH de acordo com o diagnóstico do paciente está descrita na tabela 2.

Tabela 2. Incidência de baixo rendimento de CD34+ ($< 2 \times 10^6$ células CD34+/kg peso corpóreo) em 312 tentativas de mobilização para coleta de CTHSP para auto-transplante

Doença	Células CD34+/kg peso corpóreo	
	$\geq 2 \times 10^6$	$< 2 \times 10^6$
Linfoma	106 (92%)	9 (8%)
Mieloma múltiplo	67 (92%)	6 (8%)
Doença autoimune	36 (97%)	1 (3%)
Leucemia mieloide aguda	24 (73%)	9 (27%)
Tumor sólido	25 (81%)	6 (19%)
Outras doenças hematológicas	17 (74%)	6 (26%)

Os fatores associados a um baixo rendimento de células CD34+ na análise univariada estão listados na tabela 3. Os fatores pré-mobilização que afetaram de forma significativa o rendimento de CD34+ foram LMA (p

= 0,017) e outras doenças hematológicas ($p = 0,023$). Fatores pós-mobilização significantes incluíam: células imaturas circulantes ($p = 0,001$), granulócitos ($p = 0,002$), nível de hemoglobina ($p = 0,016$) e contagem de células CD34+ ($p < 0,001$) no sangue periférico no primeiro dia de coleta. Entretanto, na análise multivariada, a contagem de células CD34+ no sangue periférico ($p < 0,001$) foi o único fator independente significativamente associado ao baixo rendimento de CTH (Tabela 4).

Tabela 3. Fatores associados a baixo rendimento de células CD34+ na análise univariada

Variável	OR	Intervalo de confiança de 95%	Valor p
Paciente			
Idade	0,999	(0,978; 1,020)	0,899
Sexo Feminino	0,834	(0,412; 1,691)	0,615
Diagnóstico			
Linfoma	3,057	(0,374; 24,968)	0,184
Mieloma múltiplo	3,224	(0,374; 27,826)	0,287
Leucemia mieloide aguda	13,500	(1,605; 113,552)	0,017*
Tumor sólido	8,640	(0,989; 76,251)	0,052
Outras doenças hematológicas	12,706	(1,416; 114,004)	0,023*
Dados pré-aferese			
Leucócitos no SP	0,999	(0,981; 1,017)	0,890
Células imaturas no SP	0,839	(0,758; 0,928)	0,001*
Granulócitos no SP	1,051	(1,019; 1,084)	0,002*
Células mononucleares no SP	0,983	(0,955; 1,013)	0,274
Contagem de plaquetas no SP	0,999	(0,995; 1,003)	0,734
Nível de hemoglobina no SP	1,261	(1,045; 1,521)	0,016*
Células CD34+ no SP	0,836	(0,978; 1,020)	<0,001*

* O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significante.
OR: Odds ratio; SP: sangue periférico.

Tabela 4. Fatores associados a baixo rendimento de células CD34+ na análise multivariada

Variável	OR	Intervalo de confiança de 95%	Valor p
Diagnóstico			
Leucemia mieloide aguda	0,688	(0,053; 9,020)	0,776
Tumor sólido	0,543	(0,037; 8,058)	0,657
Outras doenças hematológicas	0,396	(0,026; 6,100)	0,506
Dados pré-aferese			
Células imaturas no SP	0,998	(0,872; 1,142)	0,981
Granulócitos no SP	1,038	(0,984; 1,096)	0,172
Nível de hemoglobina no SP	1,240	(1,946; 1,626)	0,119
Células CD34+ no SP	0,831	(0,769; 0,897)	<0,001*

* O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significante.
OR: Odds ratio; IC95%: intervalo de confiança de 95%; SP: sangue periférico.

DISCUSSÃO

As CTH podem ser mobilizadas para a circulação pela ação de fatores de crescimento hematopoético (G-CSF), quimioterapia ou ambos. Os fatores que afetam o rendimento da coleta de CTH tem sido amplamente estudados e ainda não são plenamente conhecidos. Variáveis associadas a um baixo rendimento já descritas incluem idade avançada, determinadas doenças, número

e duração de tratamentos quimioterápicos prévios, infiltração da medula óssea, radioterapia prévia, baixa contagem de plaquetas pré-mobilização, intervalo curto entre o último ciclo de quimioterapia e a mobilização, baixa contagem de CFU-GM na medula óssea pré-mobilização, esquemas inadequados de mobilização e/ou baixa dose de G-CSF⁽⁷⁾. Entretanto, uma conclusão definitiva a partir desses estudos não é possível devido à heterogeneidade da população de pacientes e as diferentes características de suas doenças⁽²²⁾.

Nesse estudo, 88% dos pacientes atingiram o alvo desejado de CTH. Esse resultado é similar ao descrito recentemente por Wuchter et al.⁽²³⁾. O efeito da idade do paciente sobre o rendimento de CTH foi avaliado em vários estudos, com resultados contraditórios^(4,7,24). Idade e sexo do paciente não afetaram o rendimento de células CD34+ em nosso estudo. Os mesmos achados foram descritos por Wuchter et al.⁽²³⁾. Em contraste, idade abaixo de 38 anos e sexo masculino estiveram associados a um bom rendimento de CTH em doadores saudáveis de CTH⁽⁷⁾.

O papel do diagnóstico em pacientes nos quais houve falha na mobilização de CTH também já foi descrito. A leucemia aguda já foi associada a um baixo rendimento de CTH quando comparada a outras doenças hematológicas malignas^(2,4,25). No nosso estudo tanto a leucemia mieloide aguda quanto outras doenças hematológicas afetaram negativamente o rendimento de CTH na análise univariada. Uma possível explicação poderia ser o fato de que o segundo grupo incluiu vários pacientes com doenças refratárias ou recidivadas. Esses pacientes podem ter recebido mais ciclos de quimioterapia antes da mobilização de CTH, um fator que afeta negativamente o rendimento de CTH⁽²³⁾. Entretanto, esses diagnósticos não foram estatisticamente significantes na análise multivariada.

Os fatores pós-mobilização que afetam o rendimento de CTH já descritos incluem células mieloides imaturas circulantes, granulócitos e concentração de células C34+ no sangue periférico no primeiro dia de coleta^(7,16). Em nosso estudo, células imaturas circulantes, concentração de granulócitos no sangue periférico, nível de hemoglobina e concentração de células CD34+ foram significativamente associados ao rendimento de CTH na análise univariada. Entretanto, essa associação não foi significativa na análise multivariada, exceto para contagem de células CD34+ no sangue periférico⁽¹¹⁾. Um alto valor preditivo da contagem de células CD34+ no sangue periférico para o rendimento de CTH nos produtos de aférese tem sido descrito^(11,26).

As limitações desse estudo retrospectivo incluem a heterogeneidade da população de pacientes, o estágio clínico da doença e diferentes esquemas de mobilização. Outra questão é a falta de informação sobre o

número total de ciclos de quimioterapia e os agentes usados antes da mobilização. Tratamento quimioterápico prolongado e agentes alquilantes já foram descritos como fatores preditivos associados a baixo rendimento de CTH^(8,19,22-24).

CONCLUSÃO

Neste estudo, a contagem de células PB CD34+ no sangue periférico foi o único fator estatisticamente significativo associado ao rendimento de CTH nos pacientes submetidos a LGV para coleta de CTHSP para auto-transplante.

AGRADECIMENTO

Agradecemos a Angela Tavares Paes e Elivane da Silva Victor pela ajuda na análise estatística.

REFERÊNCIAS

1. Gratwohl A, Baldomero H, Frauendorfer K, Rocha V, Apperley J, Niederwieser D; Joint Accreditation Committee of the International Society for Cellular Therapy (ISCT); European Group for Blood and Marrow Transplantation EBMT (JACIE). The EBMT activity survey 2006 on hematopoietic stem cell transplantation: focus on the use of cord blood products. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(8):687-705.
2. Fruehauf S, Seggewiss R. It's moving day: factors affecting peripheral blood stem cell mobilization and strategies for improvement [corrected]. *Br J Haematol.* 2003;122(3):360-75.
3. Liu JH, Chen CC, Bai LY, Chao SC, Chang MS, Lin JS. Predictors for successful mobilization of peripheral blood progenitor cells with ESHAP + G-CSF in patients with pretreated non-Hodgkin's lymphoma. *J Chin Med Assoc.* 2008;71(6):279-85.
4. Pastore D, Specchia G, Mestice A, Liso A, Pannunzio A, Carluccio P, et al. Good and poor CD34+ cells mobilization in acute leukemia: analysis of factors affecting the yield of progenitor cells. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33(11):1083-7.
5. Takeyama K, Ohto H. PBSC mobilization. *Transfus Apher Sci.* 2004;31(3):233-43.
6. Pusic I, Jiang SY, Landua S, Uy GL, Rettig MP, Cashen AF, et al. Impact of mobilization and remobilization strategies on achieving sufficient stem cell yields for autologous transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14(9):1045-56.
7. Ikeda K, Kozuka T, Harada M. Factors for PBPC collection efficiency and collection predictors. *Transfus Apher Sci.* 2004;31(3):245-59.
8. Milone G, Leotta S, Indelicato F, Mercurio S, Moschetti G, Di Raimondo F, et al. G-CSF alone vs cyclophosphamide plus G-CSF in PBPC mobilization of patients with lymphoma: results depend on degree of previous pretreatment. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31(9):747-54.
9. Kessinger A, Sharp JG. The whys and hows of hematopoietic progenitor and stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31(5):319-29.
10. Greinix HT, Worel N. New agents for mobilizing peripheral blood stem cells. *Transfus Apher Sci.* 2009;41(1):67-71.
11. Ford CD, Chan KJ, Reilly WF, Petersen FB. An evaluation of predictive factors for CD34+ cell harvest yields from patients mobilized with chemotherapy and growth factors. *Transfusion.* 2003;43(5):622-5.
12. Gasová Z, Marinov I, Vodvářková S, Böhmová M, Bhuyian-Ludvíková Z. PBPC collection techniques: standard versus large volume leukapheresis (LVL) in donors and in patients. *Transfus Apher Sci.* 2005;32(2):167-76.
13. Abrahamsen JF, Stammesfot S, Liseth K, Hervig T, Bruserud O. Large-volume leukapheresis yields more viable CD34+ cells and colony-forming units than normal-volume leukapheresis, especially in patients who mobilize low numbers of CD34+ cells. *Transfusion.* 2005;45(2):248-53.
14. Reddy RL. Mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells for transplantation. *Transfus Apher Sci.* 2005;32(1):63-72.
15. Cassens U, Barth IM, Baumann C, Fischer RJ, Kienast J, Vormoor J, et al. Factors affecting the efficacy of peripheral blood progenitor cells collections by large-volume leukaphereses with standardized processing volumes. *Transfusion.* 2004;44(11):1593-602.
16. Sarkodee-Adoo C, Taran I, Guo C, Buadi F, Murthy R, Cox E, et al. Influence of preapheresis clinical factors on the efficiency of CD34+ cell collection by large-volume apheresis. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31(10):851-5.
17. Cassens U, Ostkamp-Ostermann P, van der Werf N, Garritsen H, Ostermann H, Sibrowski W. Volume-dependent collection of peripheral blood progenitor cells during large-volume leukapheresis for patients with solid tumours and haematological malignancies. *Transfus Med.* 1999;9(4):311-20.
18. Fontana S, Groebli R, Leibundgut K, Pabst T, Zwicky C, Taleghani BM. Progenitor cell recruitment during individualized high-flow, very-large-volume apheresis for autologous transplantation improves collection efficiency. *Transfusion.* 2006;46(8):1408-16.
19. Perseghin P, Terruzzi E, Dassi M, Baldini V, Parma M, Coluccia P, et al. Management of poor peripheral blood stem cell mobilization: incidence, predictive factors, alternative strategies and outcome. A retrospective analysis on 2177 patients from three major Italian institutions. *Transfus Apher Sci.* 2009;41(1):33-7.
20. Ford CD, Green W, Warenski S, Petersen FB. Effect of prior chemotherapy on hematopoietic stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33(9):901-5.
21. Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, Nayar R, Chin-Yee I. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. J Hematother.* 1996;5(3):213-26.
22. Liu JH, Chen CC, Bai LY, Chao SC, Chang MS, Lin JS. Predictors for successful mobilization of peripheral blood progenitor cells with ESHAP + G-CSF in patients with pretreated non-Hodgkin's lymphoma. *J Chin Med Assoc.* 2008;71(6):279-85.
23. Wuchter P, Ran D, Bruckner T, Schmitt T, Witzens-Harig M, Neben K, et al. Poor mobilization of hematopoietic stem cells-definitions, incidence, risk factors, and impact on outcome of autologous transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16(4):490-9.
24. Morris CL, Siegel E, Barlogie B, Cottler-Fox M, Lin P, Fassas A, et al. Mobilization of CD34+ cells in elderly patients (>= 70 years) with multiple myeloma: influence of age, prior therapy, platelet count and mobilization regimen. *Br J Haematol.* 2003;120(3):413-23.
25. Koenigsmann M, Jentsch-Ullrich K, Mohren M, Becker E, Heim M, Franke A. The role of diagnosis in patients failing peripheral blood progenitor cell mobilization. *Transfusion.* 2004;44(5):777-84.
26. Nowrouzian MR, Waschke S, Bojko P, Welt A, Schuett P, Ebeling P, et al. Impact of chemotherapy regimen and hematopoietic growth factor on mobilization and collection of peripheral blood stem cells in cancer patients. *Ann Oncol.* 2003;14 Suppl 1:i29-36.