

Metodi di mobilizzazione delle cellule staminali

F.Gualandi

II divisione di Ematologia

Centro Trapianti di Midollo Osseo

Osp.S.Martino Genova

Trapianto di cellule staminali (Hematopoietic Stem Cell:CD34+)

- *Sorgenti di cellule staminali emopoietiche:*
 - Midollo osseo
 - **Sangue periferico**
 - Cordone ombelicale
- *Tipi di trapianto:*
 - Allogenico
 - Autologo

La raccolta di cellule staminali dal sangue periferico e' stata introdotta nella pratica clinica agli inizi degli anni '80.

Fino ad allora l'unica fonte di cellule staminali era costituita dal midollo osseo, prelevato in anestesia generale, mediante agoaspirazione dalle creste iliache posteriori.

Subset cellulare (GCSF): correlazione con il trapianto

- **Sangue periferico:**

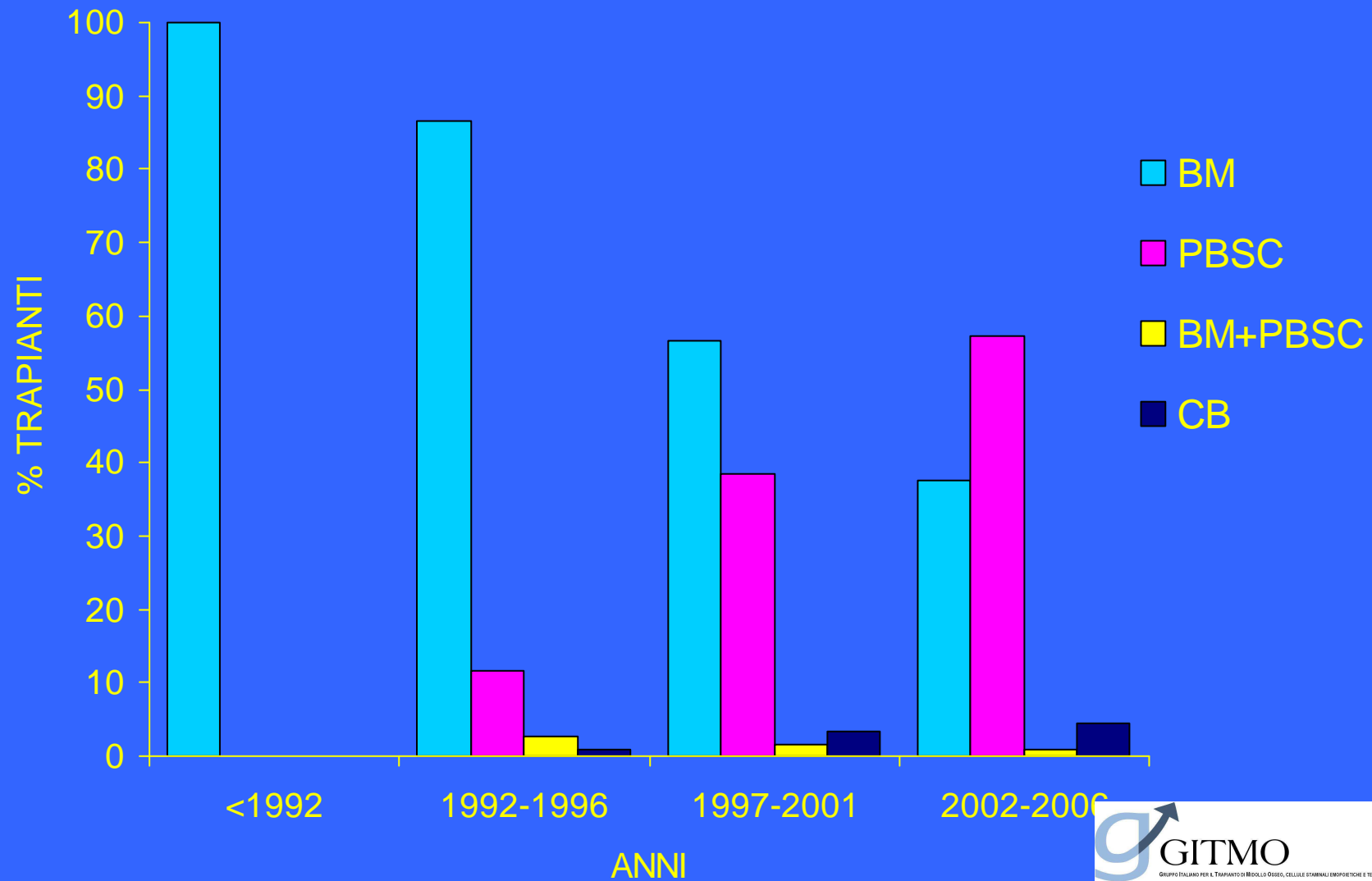
- CD34+: ↑ (3-4)
- CD3+: ↑
- NK: ↑
- MSC: assenti
- Attecchimento: ★
- Rischio infettivo: ↓
- aGvHD: ↔
- cGvHD: ↑
- Ricost. immunologica: ↑

- **Midollo osseo:**

- CD34+: ↓
- CD3+: ↓
- NK: ↓
- MSC: presenti
- Attecchimento:
- aGvHD: ↔
- cGvHD: ↓

GITMO Trapianto Allogeneico

SORGENTE DELLE CELLULE STAMINALI



Meccanismo di mobilitazione

- Chemochine CXC
 - (fattore 1 stromale:SDF-1) + CXCR4 (CS)
- Molecole di adesione
 - (VLA-4; c-kit; CD44; CXCR4;etc)

Meccanismo di azione

- **G-CSF (granulocyte-colony-stimulating factor)**
 - Lenograstim
 - Filgrastim
 - Peg-filgrastim
- **GM-CSF (granulocyte-macrophage-CSF)**
 - molecole di adesione ↓
- **AMD3100**
 - # SDF-1/CXCR4

Mobilizzazione

- Nel paziente (CD34+ : $>2 \times 10^6/\text{Kg}$)
 - per trapianto autologo

- Nel donatore (familiare e non)
 - (CD34+ : $> 3-3.5 \times 10^6/\text{Kg}$)
 - per donazione

Indicazioni al trapianto autologo

- Linfomi (non Hodgkin)
- Mieloma
- Leucemie acute
- Malattie autoimmuni
- Tumori solidi (mammella)

Mobilizzazione nel paziente

- **Chemioterapia +/- GCSEF**
- **GCSEF**
- **AMD3100 +/- GCSEF**

SCHEMI DI CHEMIOTERAPIA PER LA MOBILIZZAZIONE

- *CICLOFOSFAMIDE 1.5-4 gr/m²*
- *R-DHAP (linfomi)*
- *ICE (leucemie acute)*
- *Idarubicina+HD arac+amifostina
(pazienti >60 anni)*
- *IVE: (linfomi-salvataggio)
– (IFOSFAMIDE+ETOPOSIDE+EPIRUBICINA)*

Ciclofosfamide 1.5-3gr/mq

GCSF 5-10mcg/Kg

- **Monitoraggio CD34+: 6-10 giorni post-CHT**
- **Mediana di raccolta: 9 giorni (7-15)**
- **Successo di raccolta: 77%**
 - 1 leucaferesi 60%
 - 2 leucaferesi 34%
 - 3 leucaferesi 6%
- **LD-CY : miglior raccolta**
- **CD34+ >10mclt → raccolta >2x10⁶/Kg**
 - Valore predittivo per aferesi: 8-20/mclt
- **Multiple linee di terapia precedenti**
(agenti alchilanti, Cis-platino,etc):
 - **Unico fattore influenzante la raccolta**

Fattori influenzanti la raccolta

- Patologia di base
 - Fase di malattia
 - Tipo di malattia
 - Linee di terapia precedenti
- Paziente
 - Eta'

***MOBILIZATION, HARVESTING AND
SELECTION OF PERIPHERAL BLOOD STEM
CELLS IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE
DISEASES UNDERGOING AUTOLOGOUS
HEMATOPOIETIC STEM CELL
TRANSPLANTATION***

Burt et al

SLE: lowest CD34+ count
RRMS: highest CD34+ count

TRAPIANTO ALLOGENICO

mobilizzazione del donatore

- **G-CSF (picco di mobilizzazione a 3-6 ore)**
- **GM-CSF: tossicità** ↑
- **AMD3100**

SCHEMA DI MOBILIZZAZIONE DEL DONATORE (> 4x10⁶/Kg)

1° giorno: GCSF 5mcgr/Kg x2

2° giorno: emocromo + GCSF 5mcgr/Kg x2

3° giorno: emocromo + GCSF 5mcgr/Kg x2

4° giorno: emocromo + conteggio CD34+

eventuale I raccolta + GCSF 5mcgr/Kg x2

5° giorno: emocromo + conteggio CD34+

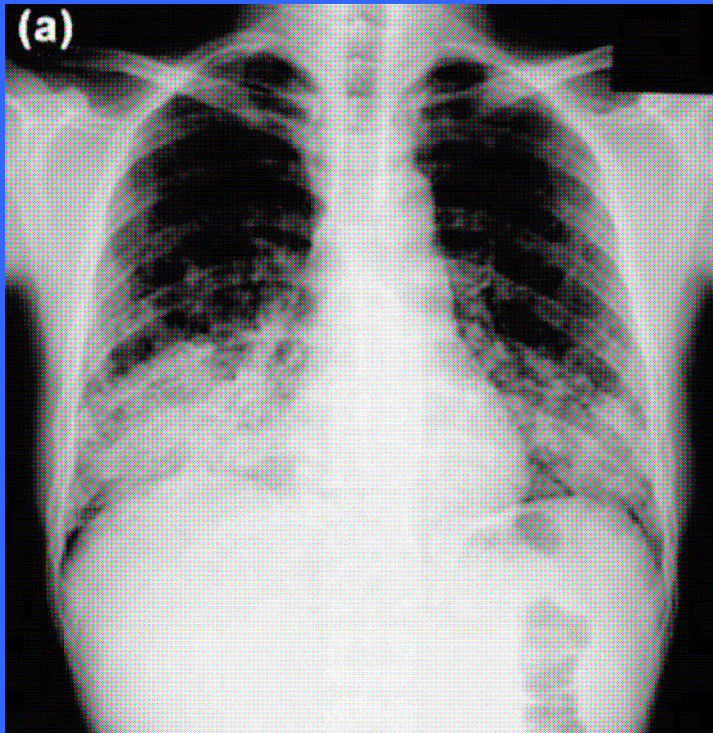
eventuale I o II raccolta + GCSF 5mcgr/Kg

6° giorno: GCSF 5mcgr/Kg + eventuale II o III raccolta

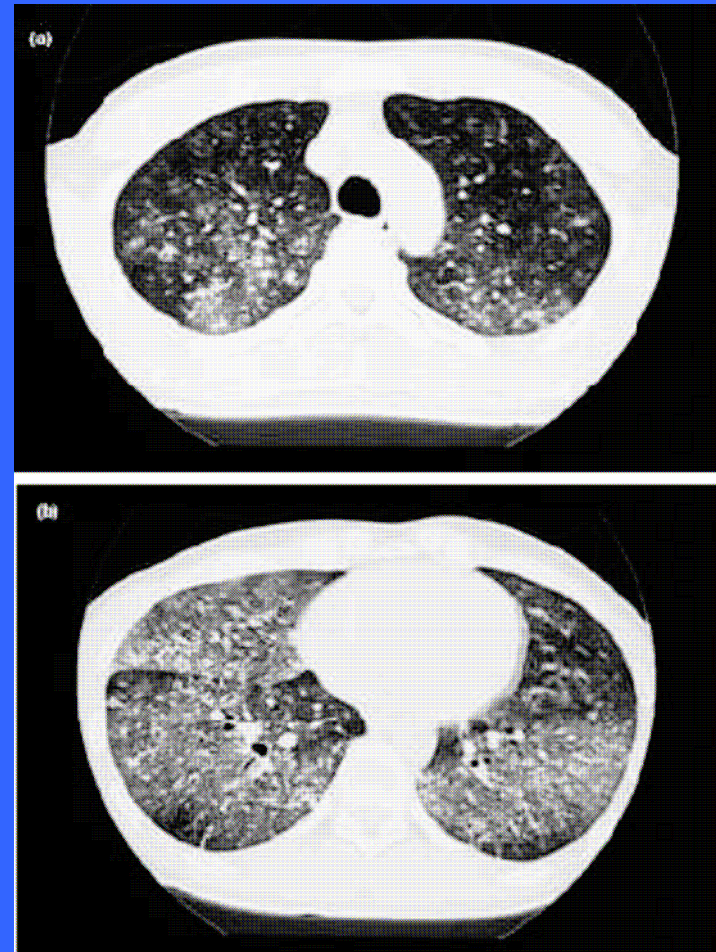
Complicanze ed eventi avversi GCSF-correlati

- Neoplasie ematologiche maligne
- Trombosi venose profonde
- Eventi trombotici e/o emorragici cerebrali
- Rottura della milza
- Insufficienza respiratoria
- Complicanze cardio-vascolari

Acute lung injury in a healthy donor during mobilization of peripheral blood stem cells using Granulocyte-Colony Stimulating factor alone

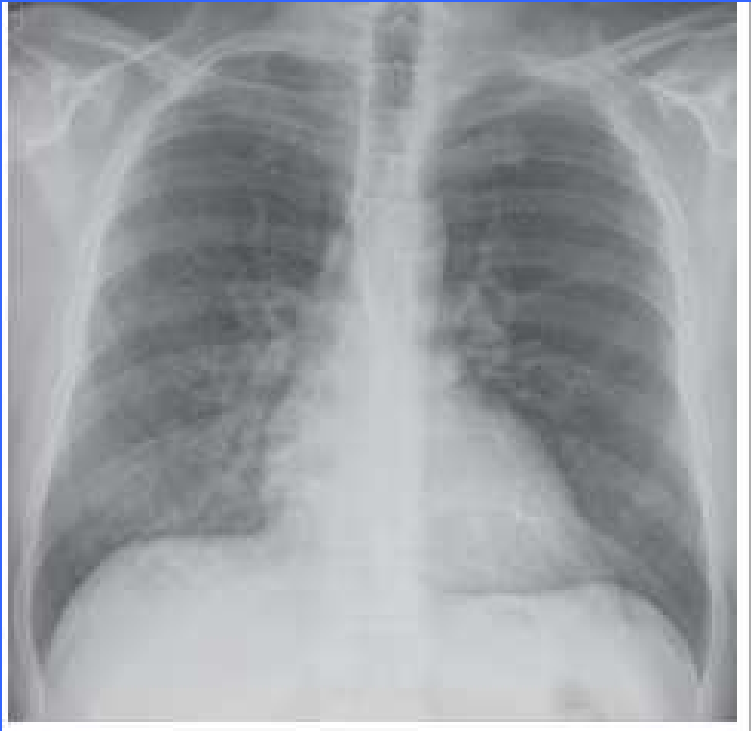


30 years male HLA-matched donor
On day 4 of 10 μ g/kg s.c. G-CSF
cough, dyspnea and sudden severe hypoxia
(PaO₂ 53.8 mmHg)



Arimura K et al. Haematologica 2005

Granulocyte Colony-Stimulating Factor-Induced Pulmonary Hemorrhage in a Healthy Stem Cell Donor



49 years male donor of
haploidentical peripheral
haematopoietic stem cell for his daughter
After 3 days of 10 μ g/kg s.c. G-CSF
cough, retrosternal discomfort and hemoptysis

Kopp H-G et al. JCO 2007

LONG-TERM EVALUATION OF DEVELOPMENT OF LEUKEMIA IN PERIPHERAL BLOOD STEM CELL DONORS

Study type	No pts	Median Follow-up	Evidence leukemogenesis
Case report (Bennett,2006)	2	6-7 years	2 Case report of leukemia
Case report (Makita,2004)	1	1-2 years	1 Case report of leukemia
Retrospective survey (Cavallaro, 2000)	101	3-6 years	None
Prospective survey (Tassi, 2005)	90	2-8 years	None
Retrospective survey (Anderlini, 2002)	281	3 years	None
Retrospective study (Horowitz, 2005)	28134	Not stated	None
Retrospective study (Pulsipher, 2006)	60000 IS 3000 VUD	Not stated	None

Retrospective analysis BM vs. PBSC

EBMT Activity survey on HSCT:
donor events (1990-2003)



DEATHS ***PB > BM ?***

PB: 3 1.18 per 100.000

- 67 y, m; d 29; subdural hematoma
- 52 y, m; d 17; pulmonary edema
- 43 y, m; d 15; cardiac arrest

BM: 1 0.35 per 100.000

- 38 y, m; d 15; pulmonary embolism

Eventi avversi gravi

- **EBMT registry:**
 - 65%, transitori, moderati, senza sequele
 - 2 casi di leucemia su 23.000 donatori
 - 5 decessi su 27000 BM+23000 PBSC
- **NMDP:**
 - 4 casi di leucemia su 2370 donatori
- **RADAR PROJECT**
(research on Adverse Drug Events and Reports):
 - 2 casi di leucemia 4 e 5 anni dopo il GCSF
- **SEAR**
(severe events adverse registry) : 0.2%

10.6.3.2 Richiesta di CSE da sangue periferico.

A meno che non abbia espressamente fornito il proprio consenso a donare esclusivamente PBSC, il volontario deve essere valutato sia per l'idoneità alla donazione di midollo osseo che per quella da sangue periferico. Pertanto un medico, oltre alle indagini indicate al paragrafo 10.6.3.1, considerati i risultati di:

- un accurato esame clinico e cardiologico, che valuti, in particolare, la sua situazione cardiovascolare,
- un ECG da sforzo,
- un'ecotomografia della milza,
- un approfondito screening coagulativo per trombofilia, che contempli lo studio, dell'ATIII, della proteina C, della proteina S e dell'omocisteina; le indagini sulle mutanti Leiden del fattore V e 20210A della protrombina vanno eseguite solo in caso di anamnesi personale e/o familiare positiva,
- conteggio delle piastrine circolanti, eseguito con particolare attenzione,
- uno screening per HbS,

Raccomandazioni nell'uso del GCSF per donazione di cellule staminali

- Mantenere la leucocitosi indotta da GCSF $< 50 \times 10^9/l$
- Non associare l'uso di anti-concezionali ormonali
- Non utilizzare in donatori di età > 60 anni
- Non utilizzare cateteri femorali

AMD 3100 (MOZOBIL)

- Meccanismo di azione:
 - Interagisce con il recettore CXCR4 della cellula staminale, bloccando il legame con la chemochina stromale factor-1 (SDF-1a).
- Modalita' di somministrazione e dosi:
 - 160-240mcgr/Kg s.c 9-10 ore prima della raccolta

AMD 3100+GCSF (linfomi)

11 pazienti

- **AMD3100 160-240mcgr/Kg+GCSF 5-10mcgr/Kg**
 - non apparente rapporto dose-effetto > 240mcgr/Kg
- **Picco di risposta: 9-10 ore dopo la somministrazione**
- **Aumento del numero delle cellule CD34+ (>2.5)**
- **Non evidenza di mobilizzazione di cellule neoplastiche**

AMD3100

eventi avversi in pazienti

- Nausea, diarrea e dolore addominale.
- Parestesie (4 pts)
- Reazione nel sito di iniezione (2 pts)

IMMUNOFENOTIPO

	G-CSF	G-CSF+ AMD3100
CD34+	+	++
CD3+	+	++
CD19+	-	+++
CD4+	+	++
CD8+	+	++

AMD3100

donatori HLA-compatibili (I)

- N° donatori: 12 (11)
- Eta' media: 49 (24-65)
- Tossicita' > 1° grado: 0
- CS >2x10⁶/Kg: 11/12
- 1 aferesi: 6/12
- 2 aferesi: 5/12

AMD3100

donatori HLA compatibili (II)

- Attecchimento: neutrofili >500: 10 giorni
piastrine >20.000: 18 giorni
- aGvHD 2-4 11%
- aGvHD 3-4 11%
- Mortalita': 1 pts deceduto per aGvHD (4°)
- cGvHD estesa: 33%

CONCLUSIONI

- **GM-CSF (passato?)**
 - **GCSF (presente)**
 - **Peg-GCSF (futuro?)**
 - **AMD3100 (futuro?)**
- a) **Outcome del trapianto:
correlazione con immunofenotipo**
- b) **Follow-up donatori**