

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CLÍNICA MÉDICA
FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

USO DE FATORES DE CRESCIMENTO
HEMATOPOIÉTICOS EM PACIENTES PORTADORES DE
LEUCEMIAS AGUDAS, RECAÍDAS OU REFRATÁRIAS,
SUBMETIDOS A QUIMIOTERAPIA DE ALTAS DOSES

Henrique Neves da Silva Bittencourt

Porto Alegre
1998

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CLÍNICA MÉDICA
FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

USO DE FATORES DE CRESCIMENTO
HEMATOPOIÉTICOS EM PACIENTES PORTADORES DE
LEUCEMIAS AGUDAS, RECAÍDAS OU REFRATÁRIAS,
SUBMETIDOS A QUIMIOTERAPIA DE ALTAS DOSES

Henrique Neves da Silva Bittencourt

Orientador: Prof. Dr. Flávio Danni Fuchs

*Dissertação de Mestrado apresentada no curso de
Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica
para obtenção do título de Mestre em Medicina.*

Porto Alegre
1998

À minha esposa Rosane, por estar presente ao meu lado em todos os momentos.

*Aos meus pais pelo exemplo dado desde a
infância.*

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Flávio Danni Fuchs, meu orientador, pela paciência e pelo exemplo contínuo de como ser pesquisador.
- Aos Drs. Adriana e Luciano Zardo, pelo auxílio na coleta dos dados desta dissertação.
- A todos os membros do Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial a Dra. Fani Job, sem os quais esta dissertação não existiria.

SUMÁRIO

LISTA ABREVIATURAS

LISTA TABELAS

RESUMO

SUMMARY

20

1 - INTRODUÇÃO

27

2 - BASE TEÓRICA

34

2.1 - CARACTERÍSTICAS FARMACOCINÉTICAS

37

2.2 - G-CSF E GM-CSF - NÍVEIS SÉRICOS EM DIFERENTES SITUAÇÕES

39

2.3 - USO DOS FATORES DE CRESCIMENTO EM LEUCEMIA

56

2.4 - USO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM TUMORES SÓLIDOS

67

2.5 - MOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS TRONCO HEMOTOPOIÉTICAS
PERIFÉRICAS PARA TRANSPLANTE

70

2.6 - USO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM TRANSPLANTE DE
CÉLULAS TRONCO HEMOPOIÉTICAS

74

2.7 - OUTROS USOS DOS FATORES DE CRESCIMENTO

80

2.8 - EFEITOS EDVERSOS DO USO DE FATORES DE CRESCIMENTO

84

3 - JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO

86

4 - OBJETIVOS

	88
5 - MATERIAIS E MÉTODOS	
	88
5.1 - DELINEAMENTO	
	88
5.2 - PACIENTES	
	89
5.3 - FATORES DE CRESCIMENTO	
	89
5.4 - CRITÉRIOS DE ALOCAÇÃO DE TRATAMENTO	
	90
5.5 - DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS EM ESTUDO	
	93
5.6 - COLETA DE DADOS	
	93
5.7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA	
	94
5.8 - TAMANHO AMOSTRAL	
	94
5.9 - ASPECTOS ÉTICOS	
	96
6 - RESULTADOS	
	105
7 - DISCUSSÃO	
	116
8 - CONCLUSÕES	
	118
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Estudos envolvendo quimioterapia de altas doses em leucemias agudas recaídas / 24
- Tabela 2 - Comparação entre os ensaios clínicos com fator de crescimento em pacientes com leucemia aguda / uso para sensibilização / 43
- Tabela 3 - Comparação entre os ensaios clínicos com fator de crescimento em pacientes com leucemia aguda / 48
- Tabela 4 - Uso de fatores de crescimento em leucemias linfóides agudas / 52
- Tabela 5 - Ensaios clínicos do uso de fatores de crescimento em leucemias agudas recaídas / refratárias / 54
- Tabela 6 - Comparação entre os ensaios clínicos com fator de crescimento em pacientes com tumores sólidos / 59
- Tabela 7 - Comparação entre os ensaios clínicos com fator de crescimento usado como adjuvante no tratamento de neutropenia febril / 64
- Tabela 8 - Características dos pacientes estudados / 96
- Tabela 9 - Quimioterapias realizadas / 97
- Tabela 10 - Comparação entre grupos tratados com e sem fatores de crescimento / 98
- Tabela 11 - Comparação entre grupos - remissões e óbito / 99
- Tabela 12 - Comparação entre grupos - infecções / 99
- Tabela 13 - Comparação entre grupos - germes isolados / 100
- Tabela 14 - Comparação dias / 101
- Tabela 15 - Comparação dias excluindo óbitos / 101
- Tabela 16 - Comparação entre grupos - custos / 102
- Tabela 17 - Regressão logística / variável óbito / 103
- Tabela 18 - Regressão logística / variável não-remissão / 103

ABREVIATURAS

G-CFS	Granulocyte colony-stimulating factor – fator estimulante de colônias de granulócitos
GM- CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – fator estimulante de colônias de granulócitos e monócitos
FAB	Françesa, Americana e Britânica
M- CSF	Macrophage colony-stimulating factor – fator estimulante de colônias de monócitos
BFU-E	Burst forming units - Erythrocyte
TNF	Fator de necrose tumoral
DNA	Ácido desoxiribonucleico
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
FDA	Food and Drug Administration – Administração de alimentos e medicamentos
EORTC	European Organization for Research and Treatment of Cancer
CALGB	Cancer and Leukemia Group B
ASH	American Society of Hematology
SWOG	Southwest Oncology Group
BFM	Berlin, Frankfurt, Munchen
LLA	Leucemia linfóide aguda
LMA	Leucemia mielóide aguda
LMC CB	Leucemia mielóide crônica em crise blástica
DECH	Doença do enxerto contra o hospedeiro
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
VP16	Etoposido
G-CFU	Granulocyte-macrophage Colony Forming Units – Unidades formadoras de colônias de granulócitos
GM-CFU	Granulocyte-macrophage Colony Forming Units – Unidades formadoras de colônias de granulócitos e monócitos

RESUMO

RESUMO

MARCO TEÓRICO

A neutropenia é freqüente nos pacientes submetidos a quimioterapia e dispõe a um aumento na incidência de episódios infecciosos. A duração e intensidade do período de neutropenia estão diretamente relacionados à intensidade da quimioterapia administrada. A disponibilidade dos fatores de crescimento hematopoiéticos da linhagem mielóide, G-CSF e GM-CSF, constituíram-se em nova abordagem para reduzir o período de neutropenia e, presumivelmente, as complicações infecciosas.

Não há consenso sobre a real utilidade do emprego de fatores de crescimento como terapia adjuvante em pacientes com leucemias agudas. Ensaio clínico envolvendo leucemias agudas recaídas ou refratárias são raros e mostraram resultados similares aos obtidos nas leucemias agudas “de novo”, ou seja, redução no período de neutropenia sem repercussão na taxa de óbito ou remissão.

OBJETIVOS

Principal: avaliar o efeito dos fatores de crescimento sobre a mortalidade hospitalar dos portadores de leucemias agudas recaídas ou refratárias submetidos a quimioterapia de altas doses.

Secundários: avaliar o impacto do uso destes fatores sobre o gasto com antibióticos, dias de neutropenia, dias de internação, dias de febre, incidência de infecções e taxa de remissão.

DELINEAMENTO

Estudo quase-experimental com controles históricos e contemporâneos.

MÉTODOS

Foram inicialmente selecionados 70 pacientes com leucemia aguda recaída, dos quais 50 preenchiam os critérios de inclusão, ou seja, além de recaída, terem sido submetidos a quimioterapia em altas doses e terem apresentado recaída em medula óssea. Entre os pacientes estudados 30 (60%) eram homens e a idade média foi de 17 anos. Dos pacientes, 31 (62%) eram portadores de leucemia linfóide aguda. O esquema quimioterápico mais utilizado foi citarabina mais etoposido em 26 pacientes. No estudo, 26 pacientes utilizaram fatores de crescimento.

Analisaram-se os dados por análise bivariada, empregando-se teste T de Student para amostras independentes para variáveis contínuas, os testes do qui-quadrado e de Fisher para distribuições nominais e modelos de regressão logística para o controle de potenciais vieses das associações de interesse.

RESULTADOS

A taxa de óbito foi semelhante, correspondendo a 3 óbitos entre os tratados sem fator de crescimento e 8 óbitos nos pacientes que o utilizaram ($P = 0,12$). Também a taxa de remissão não diferiu, estatisticamente, entre os grupos: 45,8% nos que não utilizaram fator de crescimento e 23% nos que utilizaram ($P = 0,09$). Não houve diferença na incidência global de infecções, infecções por sítio e germes isolados em culturais. O período médio de neutropenia foi menor nos pacientes que utilizaram fatores de crescimento. Os gastos com antimicrobianos foi também semelhante entre os

dois grupos. A análise multivariada não evidenciou nenhuma associação significativa entre as variáveis estudadas (idade, uso de fatores de crescimento, diagnóstico inicial e quimioterapia utilizada) e a taxa de óbito e ausência de remissão.

CONCLUSÃO

O emprego de fatores de crescimento, em pacientes com leucemia aguda recaída atendidos na clínica hematológica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, não modificou a taxa de mortalidade, a frequência de remissão e outros parâmetros clínicos de interesse.

SUMMARY

SUMMARY

BACKGROUND

Neutropenia is a common feature in patients treated with chemotherapy and is associated with an increased incidence of infections. The duration and intensity of neutropenia are mainly determined by the intensity of the chemotherapy regimen. Availability of recombinant myeloid growth factors (G-CSF and GM-CSF) brought up a new approach to reduce the duration of neutropenia and presumably, the incidence of infections.

There is no consensus on the value of use of growth factors as adjuvant therapy in patients with acute leukemias. There is a few clinical trials with patients with relapsed acute leukemias, and despite showing a reduction in the duration of neutropenia, they do not show reduction in the death or remission rates.

OBJECTIVES

Principal: to evaluate the effect of growth factors in the mortality rate of patients treated with high-dose chemotherapy for relapsed acute leukemia.

Secondary: to evaluate the effect of use of hematopoietic growth factors on the costs of antibiotic use, days of neutropenia, fever, length of hospitalization, and remission rates.

DESIGN

Quasi-experimental study with historical and contemporaneous controls.

METHODS

Among 70 patients with acute relapsed leukemia, 50 who used high dose chemotherapy and presented bone marrow relapse, were included in this investigation. A total of 30 (60%) were men, with a mean age of 17 years. Sixty two percent had acute lymphoid leukemia. High-dose cytarabine and etoposide was the chemotherapy regimen used by 26 patients. Fifty two percent of the patients were treated with growth factors in addition to chemotherapy.

T-test for independent samples for continuous variables and Chi-square and Fisher for nominal variables were employed in the bivariate analysis. Logistic regression models were employed to control for potential confounders.

RESULTS

The mortality rate was not significantly different between the two groups, corresponding to 3 deaths among patients treated without growth factors and 8 in patients treated with ($P = 0.12$). The remission rate was also statistically not different between the two groups: 45.8% in those treated without growth factors. and 23% in patients treated with growth factors. There was no difference in the incidence of infections, sites of infections and germs identified in bacteriologic tests. The duration of neutropenia was shorter in the group treated with growth factors. The costs of antibiotic use were not different. Mortality and absence of remission were not associated with age, treatment with growth factors, clinical diagnosis and chemotherapy regimen in multivariate analysis.

CONCLUSION

The use of hematopoietic growth factors in patients with relapsed acute leukemia treated in the hematological clinics of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre did not modify the mortality rate, frequency of remission and other clinical parameters.

1 - INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

A neutropenia é um achado freqüente nos pacientes submetidos a quimioterapia, particularmente os tratados pelos hematologistas. Pode também surgir em decorrência de outras patologias não oncológicas, como neutropenia cíclica e aplasia de medula. As infecções que surgem nos períodos de neutropenia são muitas vezes graves e seguidamente fatais, constituindo-se na principal causa de óbito neste grupo de pacientes.

Define-se neutropenia severa como a contagem absoluta de neutrófilos (bastonados e segmentados) abaixo de $500/\text{mm}^3$ (PIZZO, 1993). Há mais de 30 anos, BODEY e col. demonstraram que, à medida que as contagens de neutrófilos caem abaixo deste valor, maior é o risco de que os pacientes adquiram infecção. Este risco é marcadamente aumentado quando as contagens caem abaixo de $100/\text{mm}^3$ ou o período de neutropenia severa tem duração superior a uma semana (BODEY, BUCKLEY, SATHE e FREIREICH, 1966). Além de influenciar o surgimento de infecção, a neutropenia também predispõe à rápida progressão desta infecção, muitas vezes na ausência de sinais e sintomas clássicos (SLOAS, RUBIN, WALSH e PIZZO, 1995). A duração da neutropenia além de duas semanas também proporciona o surgimento de infecções fúngicas, como a candidíase e a aspergilose, esta última com grandes taxas de mortalidade (PIZZO, 1993).

Além do risco de adquirir infecções, proveniente da deficiência quantitativa dos neutrófilos, encontramos, em muitas situações, deficiências qualitativas na função neutrofílica, como capacidade bactericida, de quimiotaxia e de fagocitose diminuídas (KATZ e MUSTAFA, 1993).

Outros fatores contribuem para o aumento no risco de infecções nestes pacientes: a existência de doença ativa (no momento do diagnóstico ou em recaídas), a má condição clínica, a presença de mucosite e a utilização crescente de acessos venosos de longa duração ou em grande número, com a conseqüente descontinuidade da pele, barreira protetora natural (FEUSNER e HASTINGS, 1995; RAHMAN, ESPARTA-GUERRA, YAP, FRANCHINI, BODEY e HORTONAGYI, 1997).

O tratamento quimioterápico atual das neoplasias está sempre sofrendo mudanças. Nos últimos anos, o uso de esquemas quimioterápicos mais intensivos, isto é, com doses crescentes de quimioterápicos, tem propiciado a possibilidade de cura para um número maior de pacientes. Nesta linha se inserem esquemas quimioterápicos como os empregados em câncer de mama, linfomas recaídos, transplante de medula óssea (allogênico e autólogo) e leucemias agudas. A conseqüência desta abordagem, porém, é o aparecimento de neutropenias mais intensas e por períodos cada vez mais prolongados (KATZ e MUSTAFA, 1993).

As leucemias agudas resultam de uma proliferação neoplásica de células hematopoiéticas bloqueadas num estágio primitivo ou parcialmente diferenciado de maturação. A progressiva substituição dos elementos normais do sangue por células com capacidade de proliferação contínua propicia o quadro clínico-laboratorial típico das leucemias agudas.

A classificação das leucemias é de grande importância, pois a modalidade de tratamento e o prognóstico mudam de acordo com o tipo apresentado. A classificação mais simples divide as leucemias agudas em mielóides e linfóides.

A classificação FAB (Francesa, Americana e Britânica) subdividiu as leucemias linfóides agudas em três subtipos e as mielóides em oito subtipos, com base nos achados morfológicos e colorações histoquímicas. Mais recentemente, o advento de

imunofenotipagem (com anticorpos monoclonais) e a utilização da citogenética (através da análise de alterações cromossômicas) propiciaram o conhecimento de novas subclassificações com diferentes prognósticos.

A leucemia linfóide aguda é o tipo de tumor pediátrico mais freqüente. Cerca de 75% das leucemias agudas em pacientes abaixo dos 15 anos são linfóides. Já nos adultos predominam as leucemias mielóides agudas, numa proporção de 5 para 1. A incidência aumenta à medida que aumenta a idade.

O objetivo do tratamento quimioterápico das leucemias agudas é a obtenção e manutenção de uma resposta completa, que pode ser definida como a existência de menos de 5% de blastos numa medula óssea com celularidade adequada e capaz de produzir os elementos do sangue de forma normal (ESTEY, KANTARJIAN e KREATING, 1995). A obtenção desta resposta completa é fator imprescindível para a cura destes pacientes.

O tratamento das leucemias linfóides agudas *de novo* envolve o uso de uma série de quimioterápicos utilizados alternadamente, de forma intensiva nas doses habituais, por um tempo médio de 6 a 9 meses, seguido por um período chamado de manutenção, onde são utilizados, na maioria das vezes, quimioterápicos orais. Nos pacientes de maior risco de recidiva (como crianças e adultos portadores de leucemias com a translocação do cromossoma 9 e 22 – cromossoma Filadélfia), empregam-se quimioterápicos em altas doses na tentativa de reverter o pior prognóstico dos casos. A sobrevida livre de doença obtida com os atuais esquemas quimioterápicos se aproximam dos 70-80% nas crianças e 30-40% nos adultos (RIVERA, PINKEL, SIMONE, HANCOCK e CRIST, 1993; PRETI e KANTARJIAN, 1994; HOELZER, 1995).

Já no tratamento das leucemias mielóides agudas, o elenco de quimioterápicos empregados é bem menor. O tratamento atual é baseado em duas classes de me-

dicações: os análogos da citosina, que têm na citarabina o seu principal representante para esta situação, e as antraciclinas, com a daunorrubicina e, mais recentemente, a idarrubicina. As doses empregadas variam conforme a instituição, porém, via de regra, os esquemas utilizados produzem uma pancitopenia severa e prolongada. O esquema mais utilizado hoje em dia em nosso meio é dividido em três etapas: a primeira, chamada de indução, consiste no emprego de citarabina em doses convencionais (em infusão contínua) e de uma antraciclina; a segunda, conhecida como consolidação, é semelhante à primeira; a terceira etapa, chamada de intensificação, emprega altas doses de citarabina, associada ou não a uma antraciclina. A maioria dos centros de tratamento deixou de utilizar um período de manutenção como acontece na leucemia linfóide aguda. Utilizando-se exclusivamente quimioterapia no tratamento da leucemia mielóide aguda, tem-se conseguido uma sobrevida livre de doença de 30-50% em crianças e de 30-45% em adultos (MAYER *et al.*, 1994; HURWITZ, MOUNCE e GRIER, 1995; WEICK *et al.*, 1996). O uso de transplante de medula óssea (autólogo ou alogênico) tem aumentado este período livre de doença para uma taxa próxima dos 55% (ZITTOUN, *et al.* 1995).

Observou-se, pelos números apontados previamente, que uma boa parte dos pacientes pediátricos e a maior parte dos pacientes adultos portadores de leucemias agudas não atingem remissão após o primeiro tratamento (refratários) ou recaem durante ou após o término do tratamento quimioterápico (recaídos). Para as crianças portadoras de leucemia linfóide aguda, especialmente nas que apresentam recaídas tardias, isto é, um ano após o término do tratamento, a remissão pode ser obtida com relativa facilidade com o uso de esquemas quimioterápicos intensivos. A sobrevida livre de doença em 5 anos com quimioterapia é relativamente baixa e os melhores resultados são obtidos com o transplante de medula óssea (SALLAN e COHEN, 1995). Para os restantes (crianças com leucemia mielóide aguda e adultos em geral), a perspectiva é ainda pior. Cerca de 25-50% dos pacientes conseguem uma nova remissão. Porém, esta

é de curta duração, em média 6 meses (HOELZER, 1995). A sobrevida livre de doença em 5 anos é de 5% para os pacientes tratados exclusivamente com quimioterapia (ARCHIMBAUD *et al.*, 1991). Os resultados são bem melhores quando estes pacientes são submetidos, após se conseguir a remissão completa da doença, a um transplante de medula óssea (GALE *et al.*, 1996).

Na maioria das situações de recaída ou refratariedade, são empregados os chamados esquemas quimioterápicos de altas doses. Estes esquemas podem ser definidos grosseiramente como os que empregam doses superiores às empregadas tradicionalmente para se obter remissão no primeiro tratamento. A intenção ao se administrar as altas doses é superar a resistência adquirida pelas células leucêmicas após o primeiro tratamento. O uso de altas doses de quimioterapia tem, como consequência, prolongados períodos de aplasia, resultando em uma alta taxa de infecções graves e óbitos (principalmente devidos a infecções), como observa-se na tabela 1.

TABELA 1 – ESTUDOS ENVOLVENDO QUIMIOTERAPIA DE ALTAS DOSES EM LEUCEMIAS AGUDAS RECAÍDAS

AUTOR	DIAGNÓSTICO/ QUIMIOTERAPIA	REMISSÃO	DIAS NEUTROPENIA < 500 / MM ³	INFECÇÕES GRAVES	TAXA ÓBITO
VOGLER <i>et al.</i> 1994	LMA / altas doses de citarabina + etopo- sido	38%		65,2%	não informado
BROWN <i>et al.</i> 1990	LMA e LLA / altas do- ses de etoposido + ciclofosfamida	35%	27 dias	não informado	17%
ARCHIMBAUD <i>et al.</i> , 1991	LMA / Mitoxantrona + etoposido + ci- tarabina	61%	30 dias	57%	10%
CAPIZZI <i>et al.</i> 1984	LMA e LLA / altas doses de citarabina e L-asparaginase	68%	32 dias (abaixo de 1000/mm ³)	47%	9%
WELLS <i>et al.</i> 1994	LMA crianças / Mito- xantrona e citarabi- na	73%	32 dias	70%	5%
KERN <i>et al.</i> 1997	LMA e LLA / mito- xantrona e citarabi- na	64%	33,5 dias	64%	23%

A abordagem lógica para se reduzir o incidência de infecções e de óbitos seria a redução do período de neutropenia. Na década de 70 e 80, tentou-se a transfusão de neutrófilos durante o período de neutropenia e o uso de lítio. Os resultados foram desanimadores (PIZZO, 1984). A disponibilidade, a partir da metade da década de 80, dos fatores de crescimento da linhagem mielóide, G-CSF (Granulocyte colony-stimulating factor – fator estimulante de colônias de granulócitos) e GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – fator estimulante de colônias de granulócitos e monócitos), obtidos através de técnicas de engenharia genética, trouxeram uma nova opção para o manejo destes pacientes.

2 - BASE TEÓRICA

Síntese e Efeitos Biológicos dos Fatores de Crescimento da Linhagem Mielóide

GM-CSF

O GM-CSF humano é um polipeptídeo altamente glicosilado, composto por 127 aminoácidos (NEMUNAITIS, 1993). Seu gene está codificado no braço longo do cromossoma 5 (5q21-q31). No cromossoma 5 também estão localizados outros genes de citocinas reguladoras da hemopoiese, como as interleucinas 3, 4, 5 e 9 e M-CSF (SCHEDING, BRUGGER, MERTELSMANN e KANZ, 1995). Seu peso molecular varia de 14 a 32 Kda, devido à variação no grau de glicosilação da proteína (GRANT e HEEL, 1992). A molécula do GM-CSF recombinante sintetizado na *Escherichia coli* não é glicosilada. Já as sintetizadas em células de ovário de hamster e em fungos são glicosiladas. A glicosilação da molécula não é importante para sua atividade biológica e a sua real função não é conhecida. Supõe-se que a glicosilação influencie na antigenicidade da molécula recombinante. Existem algumas evidências de que a atividade das formas glicosiladas, *in vitro*, seja menor que a da forma não-glicosilada. Este efeito *in vivo* não foi confirmado (LIESCHKE e BURGESS, 1992; NEMUNAITIS, 1993). Suas áreas críticas para estimulação da hemopoiese são os resíduos 38-48 e 95-111.

A molécula de GM-CSF não apresenta homologia com nenhum outro fator de crescimento. Apresenta 54% de homologia com o GM-CSF murino. Seu efeito biológico é mediado por um receptor específico (NEMUNAITIS, 1993). Este receptor pertence a uma família de receptores de fatores de crescimento hemopoiéticos, que inclui

os receptores para interleucina 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, G-CSF, eritropoietina, prolactina, etc. Os receptores para GM-CSF, interleucina 3 e 5 são heterodímeros; apresentam uma cadeia alfa diferente com pequena afinidade e uma cadeia beta comum de alta afinidade. A associação destas duas cadeias forma um dímero de alta afinidade capaz de exercer sua atividade eficientemente (SCHEDING, BRUGGER, MERTELSMANN e KANZ, 1995).

Sua atividade biológica *in vivo* é a de estimular a proliferação e a maturação de células progenitoras comissionadas para a linhagem mielóide, levando ao aumento nas contagens periféricas de granulócitos (neutrófilos e eosinófilos). Sua atividade *in vitro*, entretanto, é bem mais ampla. O GM-CSF é um fator de crescimento multilinhagem que promove o crescimento dos progenitores de diversas linhagens mielóides, embora alguns destes efeitos sejam indiretos (OGAWA, 1993). Além de atuar na linhagem mielóide, o GM-CSF, em conjunto com a eritropoietina, atua sobre progenitores eritróides, estimulando o desenvolvimento dos BFU-E e, atuando sinergicamente com a interleucina 3, estimula a formação de colônias megacariocíticas (SCHEDING, BRUGGER, MERTELSMANN e KANZ, 1995). A concentração do GM-CSF também estimula seletivamente determinadas linhagens. Em baixas concentrações, ocorre estimulação de colônias de macrófagos. Já em altas concentrações, ocorre o estímulo de colônias de granulócitos (NEMUNAITIS, 1993). O uso conjunto de GM-CSF e G-CSF é sinérgico na estimulação das colônias de granulócitos-macrófagos (GRANT e HEEL, 1992).

As células que normalmente produzem GM-CSF nos humanos são os linfócitos T, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais (GRANT e HEEL, 1992).

Além de atuar na hemopoiese, o GM-CSF também exerce importantes funções na regulação das atividades das células maduras. Resumem-se estas atividades na lista abaixo (adaptado de GRANT e HEEL, 1992 e NEMUNAITIS, 1993):

Neutrófilos

- inibição da migração randômica;
- indução de interleucina 1;
- diminuição da expressão das proteínas de adesão;
- aumento da capacidade de citotoxicidade dependente de anticorpos;
- aumento da lise do *Trypanosoma cruzi*;
- aumento da degranulação;
- aumento da capacidade de fagocitose;
- aumento da quimiotaxia;
- aumento da geração de superóxidos;
- aumento da liberação de ácido araquidônico;
- correção parcial dos defeitos dos neutrófilos e aumento da atividade natibacteriana em pacientes infectados pelo HIV.

Monócitos

- aumento da citotoxicidade dependente de anticorpos;
- aumento da atividade antitumoral dependente de anticorpos;
- aumento da aderência às células endoteliais;
- aumento da expressão do complexo de histocompatibilidade classe II;
- aumento da fagocitose;
- aumento da capacidade de matar organismos intracelulares;
- potenciação do processamento de antígenos e aumento da replicação viral do HIV;
- aumento da expressão dos genes e/ou liberação do fator de necrose tumoral (TNF), interleucina 1 e 6, M-CSF e G-CSF;
- “downregulation” do interferon gama;
- aumento na apresentação de antígenos;
- aumento do metabolismo oxidativo;
- inibição do crescimento e aumento na capacidade de matar espécies de *Leishmania*;

- inibição do crescimento do *Trypanosoma cruzi*;
- aumento da atividade antifúngica contra *Candida albicans*;
- aumento da atividade antiviral da zidovudina (AZT).

Eosinófilos

- aumento da fagocitose;
- aumento da aderência e aumento na expressão de moléculas de adesão;
- aumento na sobrevida ;
- aumento da citotoxicidade não específica;
- aumento da citotoxicidade dependente de anticorpos;
- aumento da capacidade de matar larvas de *Schistosoma mansoni*.

Basófilos

- estimula a liberação de histamina dos seus grânulos.

Deve-se ressaltar que a grande maioria dos efeitos descritos acima foram verificados *in vitro* .

O GM-CSF pode estimular a proliferação de clones de células leucêmicas, em cultura, provenientes de pacientes portadores de leucemia mielóide aguda (VELLENGA, YOUNG, WAGNER, WIPER, OSTAPOVICZ e GRIFFIN, 1987, GORE, WENG e BURKE, 1994). Este efeito pode ser potencializado pela combinação de outras citocinas (GORE, WENG e BURKE, 1994). Embora existam algumas evidências de diferenciação de algumas linhagens de leucemias *in vitro* , não existe nenhuma evidência *in vivo* de que este efeito exista (GRANT e HEEL, 1992). Como o GM-CSF estimula a proliferação de células leucêmicas, ele coloca um número proporcionalmente maior de células na fase S do ciclo celular. Desta maneira, potencializaria a atividade de drogas qui-

miotéricas com atividade predominante na fase S, como, por exemplo, a citarabina (WÖRMANN, REUTER, ZÜHLSDORF, BÜCHNER e HEDDERMANN, 1994). Há algumas evidências, em estudos *in vitro*, de que o GM-CSF pode estimular o crescimento de células de tumores não hematológicos, embora, na maioria das situações, isto só ocorra em doses extremamente altas. Receptores funcionais para GM-CSF já foram isolados em algumas linhagens de câncer pulmonar de pequenas células (GRANT e HEEL, 1992).

G-CSF

O DNA complementar da molécula de G-CSF foi isolado de uma linhagem celular de carcinoma de bexiga em 1986, que produzia, nestas células, uma molécula com 174 aminoácidos. A colocação deste DNA em uma *Escherichia coli* gerou uma molécula composta por 175 aminoácidos com peso molecular de 18,8 Kda (TABBARA, 1993). Posteriormente, uma outra molécula de G-CSF foi isolada de uma linhagem de carcinoma escamoso humano, que diferia da anteriormente isolada pelo acréscimo de três aminoácidos. Esta molécula maior aparentemente apresenta uma atividade menor que a isolada inicialmente (DEMETRI e GRIFFIN, 1991). A localização cromossômica do gene do G-CSF localiza-se no braço longo do cromossoma 17 (17 q 11-22), próximo ao ponto de quebra da translocação responsável pela leucemia promielocítica, e é composto por 5 exons que se espalham por 2,5 Kbp. Existe uma homologia de 69% entre o gene humano e o gene presente em murinos, embora estejam presentes em cromossomas diferentes (TABBARA, 1993). Existe também uma semelhança entre a molécula do G-CSF e a molécula da interleucina 6, podendo os genes destas duas citocinas terem sido provenientes de uma duplicação gênica durante a evolução (DEMETRI e GRIFFIN, 1991). A forma produzida na *E. coli*, ao contrário da produzida nos humanos e em outros seres vivos, não é glicosilada, o que não altera a sua atividade biológica.

Diversas células têm a capacidade de produzir G-CSF no organismo: células endoteliais, fibroblastos, macrófagos ativados, monócitos e neutrófilos. Algumas células neoplásicas, como algumas linhagens de carcinoma de células escamosas, também são capazes de produzir constitutivamente o G-CSF (TABBARA, 1993).

O G-CSF exerce sua atividade através de sua ligação com receptores específicos, saturáveis e de alta afinidade, presentes em células hematopoiéticas da linhagem mielóide, do mieloblasto ao granulócito segmentado. Não se encontram receptores em células progenitoras da linhagem eritróide ou megacariocítica (DEMETRI e GRIFFIN, 1991; CHAKRABORTY, WHITE, SCHAEFER, BALL, DYER e TWEARDY, 1996). O número de receptores varia de acordo com a diferenciação das células, sendo mais numerosos nos neutrófilos maduros. Receptores para G-CSF também foram encontrados em uma série de outras células, incluindo células leucêmicas de linhagem mielóide, células placentárias e trofoblásticas, células do endotélio vascular e células derivadas de carcinoma pulmonar de pequenas células. O significado da presença destes receptores em células não hematológicas ainda não é conhecido. Já a sua presença, em algumas células leucêmicas mielóides, desencadeia um forte estímulo proliferativo (VELLENGA, YOUNG, WAGNER, WIPER, PSTAPOVICZ e GRIFFIN, 1987; DEMETRI e GRIFFIN, 1991). Este efeito também é visto *in vivo*, com expansão das células leucêmicas e aumento da porcentagem destas células em fase S (BAER *et al.*, 1996). As concentrações necessárias para este efeito acontecer são bem superiores às necessárias para estimular o desenvolvimento de células normais (LEE e CRAWFORD, 1995).

A atividade biológica principal do G-CSF restringe-se às células hematopoiéticas da linhagem mielóide. *In vitro*, o G-CSF estimula a proliferação e diferenciação das células formadoras de colônias de neutrófilos além de alterar diversas funções dos neutrófilos maduros. A população sobre a qual o G-CSF atua é uma população de células progenitoras relativamente maduras, comissionadas para diferenciar como neutrófi-

los (DEMETRI e GRIFFIN, 1991). A função principal do G-CSF estaria então relacionada ao controle da produção de neutrófilos na granulopoiese normal e em situações especiais, como em infecções e em períodos de neutropenia (WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER E MORSTYN, 1996). Já foi demonstrado que o G-CSF também atua sobre as células progenitoras primitivas que estão em G0, colocando-as em processo de proliferação (OGAWA, 1993). A concentração do G-CSF também influencia a linhagem celular estimulada: baixas concentrações provocam o surgimento de colônias de neutrófilos, altas concentrações estimulam o surgimento de colônias mistas de neutrófilos e macrófagos (TABBARA, 1993).

O G-CSF apresenta também importantes efeitos na atividade dos neutrófilos maduros, que estão resumidos na lista abaixo (sumarizado de CHATTA, PRICE, ALLEN e DALE, 1994; de HAAS, 1994; ANDERLINI, PRZEPIORKA, CHAMPLIN e KÖRBLING, 1996; YASUI, TSUNO, MIYABAYASHI, YAMAZAKI e KOMIYAMA, 1996):

- aumento da produção de superóxidos;
- aumento da quimiotaxia;
- aumento da atividade anti-*Candida albicans*;
- redução no tempo de maturação dos neutrófilos;
- aumento na expressão de receptores para imunoglobulinas nos neutrófilos;
- aumento na atividade citotóxica antitumoral dependente de anticorpos.

O aumento da atividade dos neutrófilos maduros que existe após a exposição deles ao G-CSF pode ser inibido se estas células forem expostas a quimioterápicos, pelo menos *in vitro* (HUMPHREYS, STRINGER, HART e EDWARDS, 1993)

2.1 - CARACTERÍSTICAS FARMACOCINÉTICAS

GM-CSF

Dois métodos são utilizados para detectar o GM-CSF em circulação. O primeiro deles é um ensaio biológico que determina a formação de colônias induzidas pelos níveis circulantes de GM-CSF. Esta técnica é sensível porém pouco específica. O outro método envolve um ensaio do tipo ELISA que é específico para o GM-CSF e sensível para concentrações entre 0,1 e 2,5 µg/L. Os níveis séricos normais estão geralmente abaixo destes valores (NEMUNAITIS, 1993).

As propriedades farmacocinéticas do GM-CSF recombinante depende de sua via de administração e, talvez, da sua fonte de produção. A sua infusão endovenosa atinge os níveis séricos mais elevados, que caem rapidamente em duas fases: uma fase de distribuição com meia-vida de 5 a 15 minutos e uma fase de eliminação com meia-vida de 1,5 a 2 horas. A sua administração subcutânea provoca um pico sérico após 2 horas e cai mais lentamente, com uma meia-vida de eliminação de aproximadamente 3 horas e níveis indetectáveis em 24 horas. O GM-CSF recombinante é encontrado no fígado após a sua administração, seguido por uma progressiva realocação para os rins, onde o mesmo é degradado (GRANT e HEEL 1992; LIESCHKE e BURGESS, 1992). Quando o GM-CSF é administrado por infusão endovenosa contínua, níveis séricos adequados são mantidos por todo o período e não se observam picos séricos altos.

Uma concentração de 1 µg/L corresponde à máxima atividade *in vitro* do GM-CSF e, assim, este valor pode ser considerado como a concentração sérica a ser atingida. Concentrações acima deste valor são mantidas por 8 a 22 horas após a administração em bolo de 15 microg/kg, e por 16 horas após a administração da mesma dose

por via subcutânea. A concentração sérica aumenta com a dose para cada via de administração, embora nem sempre de maneira linear (GRANT e HEEL, 1992).

Diversos grupos têm investigado a resposta mielopoiética de acordo com a via de administração. Doses equivalentes administradas por infusão contínua endovenosa ou uma a duas vezes ao dia por via subcutânea são igualmente efetivas no aumento das contagens de leucócitos. Na maioria dos estudos, tem-se demonstrado que o uso endovenoso contínuo é mais efetivo que o uso em bolo (GRANT e HEEL, 1992). O esquema de administração aprovado pelo FDA nos Estados Unidos é a infusão endovenosa em 2 horas. Alguns grupos sugerem que a toxicidade pode ser maior quando o GM-CSF é utilizado em bolo do que quando é utilizado por via subcutânea, endovenosa contínua ou infusão de 2 horas, já que a reação que ocorre na primeira dose parece estar mais correlacionada com o pico sérico e com a via endovenosa. No entanto, nos pacientes que já haviam experimentado esta reação e que utilizaram a via subcutânea, a reação voltou a aparecer, porém num período de tempo mais longo após a administração (LIESCHKE e BURGESS 1992; NEMUNAITIS, 1993).

Formas altamente glicosiladas de GM-CSF apresentam atividade menor porém meia-vida maior quando comparadas com as formas não glicosiladas (LIESCHKE e BURGESS, 1992; AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, 1994). Se esta diferença influencia na efetividade das apresentações, isto ainda não foi demonstrado.

A dose recomendada para a preparação derivada de leveduras (sargramostina) varia entre 125 e 500 $\mu\text{g}/\text{m}^2$, embora doses tão baixas quanto 30 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ tenham se mostrado efetivas em aumentar a contagem de neutrófilos nos pacientes com mielodisplasia. A preparação derivada de *Escherichia coli* (molgramostina) é recomendada na dose de 5 a 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Doses de até 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ também se mostraram efetivas em pacientes com mielodisplasia. A dose limite ocorre acima de 500 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ (sargramostina) ou 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (molgramostina). A tentativa de se utilizar em doses maiores não trouxe um

aumento significativo na atividade biológica do GM-CSF. A via recomendada para a administração é a subcutânea, pela praticidade e efeito adequado; em situações onde esta via não pode ser utilizada, como na plaquetopenia severa, a via endovenosa também é aceitável (NEMUNAITIS, 1993; AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, 1994).

G-CSF

O G-CSF apresenta um pico sérico máximo de 4 e 49 $\mu\text{g/L}$ após a administração subcutânea de 3,5 e 11,5 $\mu\text{g/kg}$, respectivamente, atingida num período de 2 a 8 horas após a administração e é mantido por 6 horas (ANDERLINI, PRZEPIORKA, CHAMPLIN e KÖRBLING, 1996). Concentrações, 24 horas após a injeção subcutânea, se mantêm acima de 10% da concentração de pico. A administração por via endovenosa proporciona uma meia-vida de eliminação de 1,3 a 7,2 horas após uma dose de 3 a 60 $\mu\text{g/kg}$ infundida em 20 a 30 minutos e o pico sérico chega a até 600 $\mu\text{g/L}$. A eliminação é prolongada em pacientes que recebem mais de 10 $\mu\text{g/kg}$, sugerindo um mecanismo de eliminação saturável ainda não identificado (LIESCHKE e BURGESS, 1992; FRAMPTON, LEE e FAULDS, 1994). Os parâmetros farmacocinéticos em crianças são semelhantes aos encontrados nos adultos (STUTE, SANTANA, RODMAN, SCHELL, IHLE e EVANS, 1992). A concentração sérica de G-CSF mantém-se constante após 2-3 dias do uso subcutâneo de 10 $\mu\text{g/kg}$, porém lentamente declina apesar da administração continuada da mesma dose. A biodisponibilidade do G-CSF pode ser influenciada pela sua remoção com o aumento progressivo nos neutrófilos que ele estimula. O crescimento nas contagens de neutrófilos está associado com o aumento na depuração do G-CSF, quando este é administrado a pacientes com câncer, sugerindo a existência de um mecanismo de "feedback" negativo que regula o número ideal de neutrófilos no estado normal e em estados patológicos (WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYNG, 1996). O meca-

nismo pelo qual o G-CSF é metabolizado e excretado não é conhecido, mas como a contagem de neutrófilos parece influenciar a sua depuração, talvez estejam envolvidos endocitose e degradação nos neutrófilos (FRAMPTON, LEE e FAULDS, 1994). Não é necessário o ajuste de dose nos pacientes com insuficiência renal, hepática ou em pacientes idosos (ANDERLINI, PRZEPIORKA, CHAMPLIN e KÖRBLING, 1996). A administração de G-CSF, por via subcutânea, provoca uma queda rápida na contagem de neutrófilos após 30 minutos, seguida de normalização das contagens em 90 minutos e subsequente aumento das contagens (XU, HÖGLUND e VENGE, 1996). Como não se estudou o efeito do G-CSF no desenvolvimento fetal, seu uso durante a gestação não é recomendado (ANDERLINI, PRZEPIORKA, CHAMPLIN e KÖRBLING, 1996)

O G-CSF tem como dose recomendada 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ou 230 $\mu\text{g}/\text{m}^2$. Alguns ensaios clínicos mostram que doses de até 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ reduzem efetivamente o período de neutropenia após quimioterapia (AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, 1994). Seu uso pode ser feito por via subcutânea ou por via endovenosa com resultados similares, embora o uso subcutâneo seja o preferido para administração ambulatorial. Doses tão baixas quanto 0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ induzem respostas adequadas na contagem de neutrófilos em pacientes com mielodisplasia.

2.2 - G-CSF E GM-CSF – NÍVEIS SÉRICOS EM DIFERENTES SITUAÇÕES

As citocinas em geral e os fatores de crescimento da linhagem mielóide em particular são mediadores de um complexo sistema de resposta a infecções. O G-CSF e o GM-CSF são mediadores da leucocitose e da ativação de diversas funções dos neutrófilos e macrófagos. Eles têm sido utilizados na tentativa de acelerar a recuperação após neutropenias secundárias a tratamentos mielossupressivos ou a estados de falência medular

e, desta forma, reduzir o risco de infecção neste período. Para o adequado entendimento da utilização (ou suplementação) do G-CSF e GM-CSF é necessário conhecer o comportamento da secreção endógena destas duas citocinas em situações normais e em situações patológicas.

Os valores normais de G-CSF endógeno geralmente estão abaixo do nível de detecção das técnicas atuais, isto é, abaixo de 30 nanogramas/L. Mesmo quando detectado, não ultrapassa os 100 nanogramas/L (WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYNG, 1996). Um estudo realizado na Suécia em pacientes não neutropênicos mostrou que os níveis endógenos de G-CSF aumentam de maneira significativa após infecções bacterianas, sendo maior a resposta a infecções por germes gram positivos (níveis médios de 6.000 nanogramas/L) e em septicemias por germes gram negativos (4.400 nanogramas/L). Já em relação às infecções virais e pneumonias atípicas, a variação nos níveis de G-CSF é significativamente menor, atingindo valores médios de 60 nanogramas/L (PAUKSEN, ELFMAN, ULFGREN e VENGE, 1994). Um outro estudo realizado na Austrália comparou pacientes febris (neutropênicos ou não) com pacientes afebris (neutropênicos ou não), medindo os níveis séricos de G- e GM-CSF. Em relação ao G-CSF, os níveis séricos foram significativamente mais altos nos pacientes neutropênicos e febris, atingindo um valor médio de 0,6 nanogramas/ml, com valor extremo de 146 nanogramas/ml. Os níveis, nos pacientes febris não neutropênicos, também eram elevados, com valor médio semelhante porém com valor extremo sensivelmente mais baixo (10 nanogramas/ml). Nos pacientes afebris, o valor médio dos níveis de G-CSF era de 1,62 nanogramas/ml. O GM-CSF, ao contrário, não tinha seu nível alterado em qualquer das situações descritas (CEBON, LAYTON, MAHER e MORSTYN, 1994).

Na neutropenia severa crônica, os níveis de G-CSF também se encontram elevados, variando entre 150 a 900 picogramas/ml, quando comparado a controles (variação entre indetectável e 100 picogramas/ml), caracterizando a doença como uma situação onde não ocorre resposta adequada ao G-CSF (MEMPEL, 1991). O nível sérico de GM-CSF encontra-se elevado em pacientes com trombocitopenias, demonstrando que ele desempenha um papel na resposta a trombocitopenias (ABBOUD, LAVER, XU, WEKSLER e BUSSEL, 1996).

Os níveis séricos de G-CSF também se mostram significativamente elevados nas neutropenias pós quimioterapia. Um estudo realizado na Alemanha demonstrou que os níveis séricos do G-CSF endógeno podem atingir níveis semelhantes aos conseguidos nos pacientes que receberam G-CSF recombinante e correlacionam-se inversamente com a contagem de leucócitos. Os níveis de GM-CSF não se alteram nesta situação (REISBACH *et al.*, 1996). Em pacientes submetidos a transplante de medula óssea também se verificam níveis elevados de G-CSF, que atingem um nível máximo no décimo dia após o transplante (valor médio de 469 picogramas/ml com extremo de 23.215 picogramas/ml) (BUSCH, PILGRIM, KRÄMER e EHNINGER, 1997).

2.3 - USO DOS FATORES DE CRESCIMENTO EM LEUCEMIAS

O tratamento das leucemias agudas tem sofrido poucas alterações significativas nos últimos dez anos. A introdução do ácido transretinóico talvez seja a única novidade relevante. Na falta de novas medicações que tragam impacto no tratamento, os pesquisadores têm trabalhado no aumento das doses dos quimioterápicos já existentes. Esta abordagem, embora proporcionando melhores resultados, vem acarretando

maior morbidade para os pacientes em decorrência do binômio neutropenia/plaquetopenia que a acompanha.

Os resultados iniciais obtidos em ensaios clínicos com tumores sólidos levaram os pesquisadores a incluírem os fatores de crescimento nos estudos envolvendo o tratamento de leucemias. As abordagens destes estudos são duas:

1. Sensibilização das células leucêmicas à quimioterapia;
2. Redução no período de neutropenia, na tentativa de reduzir a morbimortalidade por infecções.

1 - Sensibilização das células leucêmicas à quimioterapia

Os fatores de crescimento estimulam *in vitro* as células leucêmicas. Estudos recentes desenvolvidos em portadores de leucemia mielóide aguda não tratados, que utilizaram fatores de crescimento, demonstram que este efeito também ocorre *in vivo*. O uso de G-CSF, neste contexto, aumenta pelo menos um dos seguintes parâmetros: blastos circulantes, blastos na medula óssea ou células leucêmicas em fase S (BAER *et al.*, 1996).

Os primeiros estudos envolvendo o uso de fatores de crescimento para sensibilizar células leucêmicas foram conduzidos como estudos fase I/II. GM-CSF foi utilizado, simultaneamente, com citarabina e daunorrubicina em 18 pacientes com leucemia mielóide aguda. Obteve-se remissão completa em 15 (83%) dos pacientes. Observou-se aumento da proporção de células que estavam em fase celular quimiosensível. Não havia grupo controle (BETTELHEIM *et al.*, 1991). Um estudo comparativo com controles históricos foi desenvolvido no *M.D. Anderson Cancer Center*, empregando GM-CSF antes e durante a quimioterapia para leucemia mielóide aguda “de novo”. Os resultados

obtidos foram decepcionantes, sendo considerado, como fator preditivo de menor taxa de remissão e menor sobrevida, o uso associado de GM-CSF ao esquema quimioterápico (ESTEY *et al.* 1992). O mesmo grupo tentou a utilização de G-CSF antes e durante o uso de fludarabina e citarabina em portadores de leucemia mielóide aguda “de novo” e de mielodisplasias. Os resultados também não foram favoráveis, não alterando a taxa de infecções e taxa de remissão (ESTEY *et al.* 1994). Também envolvendo o uso de GM-CSF, simultaneamente aos quimioterápicos, desta vez no tratamento de síndromes mielodisplásicas, o estudo de BERNELL, KIMBY e HAST demonstrou aumento na taxa de remissão, menor número de mortes tóxicas, menos dias de febre e menos dias de neutropenia e trombocitopenia quando comparados com controles históricos (BERNELL, KIMBY e HAST, 1994). Outro estudo pequeno desenvolvido no Japão empregou G-CSF, simultaneamente aos quimioterápicos, em pacientes portadores de leucemia mielóide aguda recaída, leucemia hipoplásica e síndrome mielodisplásica, com resultados favoráveis. A amostra, entretanto, era muito pequena e não havia grupo controle (NOUE *et al.*, 1995).

A partir de 1995, começam a ser publicados os primeiros ensaios clínicos utilizando fatores de crescimento na sensibilização de células leucêmicas. Um estudo desenvolvido pelo EORTC na Europa foi publicado em 1996 e comparava a utilização de GM-CSF como adjuvante no tratamento de leucemia mielóide aguda “de novo”. O estudo foi desenvolvido em quadro braços: pacientes randomizados para receber GM-CSF durante e após a quimioterapia, receber durante a quimioterapia somente, receber após a quimioterapia e não receber GM-CSF. Os pacientes que receberam GM-CSF após a quimioterapia, bem como os pacientes que receberam o fator de crescimento por todo o período, apresentaram taxa de remissão significativamente menor ($P = 0,008$). O grupo que não recebeu GM-CSF e o grupo que recebeu somente no período da quimioterapia apresentaram taxa de remissão semelhante. Não houve diferença entre os grupos no que diz respeito à taxa de infecção ou mortes por toxicidade. Os autores concluíram

que não houve benefício no uso de GM-CSF no tratamento de indução de leucemia mielóide aguda, observando-se, inclusive, efeitos deletérios quando empregado no período de neutropenia que se segue à quimioterapia (ZITTOUN *et al.*, 1996). Um desenho semelhante foi empregado em um estudo conduzido na Bélgica, Suíça e Holanda, também utilizando GM-CSF. Não se observaram diferenças entre os quatro grupos no que diz respeito à taxa de remissão, sobrevida global, uso de antibióticos, dias de hospitalização e necessidades transfusionais (LÖWENBERG, 1997).

Vários outros ensaios clínicos randomizados foram apresentados recentemente nos encontros anuais da Sociedade Americana de Hematologia de 1995 e 1996, sob a forma de apresentação oral ou pôster. Alguns destes empregaram fatores de crescimento em pacientes com mais de 55 anos (grupo considerado de maior risco no tratamento de leucemia aguda). WITZ *et al.* estudaram 244 pacientes entre 55 e 75 anos, portadores de leucemia mielóide aguda, que foram randomizados para receber placebo ou GM-CSF durante e após tratamento quimioterápico de indução. Não houve diferença significativa na taxa de remissão, taxa de óbito precoce e taxa de refratariedade. A duração da neutropenia foi significativamente menor no grupo que utilizou GM-CSF, porém isto não se traduziu em diminuição na incidência de febre e no tempo de hospitalização. Observou-se, entretanto, um aumento na sobrevida livre de doença nos pacientes que utilizaram GM-CSF (WITZ *et al.*, 1995). Outro estudo foi conduzido pelo EORTC em pacientes portadores de leucemia mielóide aguda “de novo” com idade acima de 60 anos. Estes pacientes, submetidos a quimioterapia de indução, foram randomizados para receber placebo ou GM-CSF durante e após a quimioterapia. As taxas de remissão, incidência de infecção, dias de antibióticos, sobrevida global e sobrevida livre de doença foram semelhantes entre os dois grupos. A recuperação dos neutrófilos foi mais rápida no grupo que utilizou GM-CSF, porém a duração da febre também o foi neste grupo (LÖWENBERG *et al.*, 1997). GM-CSF também foi empregado, num estudo conduzido na Alemanha em portadores de leucemia mielóide aguda *de novo*, simultaneamente à quimioterapia de indução. Não houve diferenças entre o grupo controle (pla-

cebo) e o grupo que recebeu GM-CSF em relação à taxa de remissão e sobrevida global (HEIL *et al.*, 1995). Os trabalhos comentados estão sumarizados na tabela 2.

TABELA 2 - COMPARAÇÃO ENTRE OS ENSAIOS CLÍNICOS COM FATOR DE CRESCIMENTO EM PACIENTES COM LEUCEMIA AGUDA / USO PARA SENSIBILIZAÇÃO

AUTORES	n (FATOR / PLACEBO)	PATOLOGIAS	QUIMIOTERAPIA	TAXA REMISSÃO	SOBREVIDA GLOBAL	TAXA ÓBITO
OHNO <i>et al.</i> , 1994	G-CSF - 28 placebo - 30	LMA refratária ou recaída	citarabina	50%	20%	1/28
			mitoxantrona etoposido	37%	18%	2/30
ZITTOUN <i>et al.</i> , 1996	GM-CSF/nada - 25 nada/nada - 26 GM-CSF/GM-CSF - 24 nada/GM-CSF - 27	LMA "de novo"	daunorrubicina	72%	semelhante (dado não mostrado)	4%
			citarabina	77%		7,7%
				46%*		8,3%
				48%*		3,7%
LÖWENBERG 1997	GM-CSF/nada - 64 nada/nada - 63 GM-CSF/GM-CSF - 66 nada/GM-CSF - 60	LMA "de novo"	daunorrubicina ou amsacrina	semelhan- te (dado não mos- trado)	semelhante (dado não mostrado)	
			citarabina			
WITZ <i>et al.</i> , 1995	GM-CSF - 111 placebo - 121	LMA "de novo" (pacientes entre 55 e 75 anos)	idarrubicina	62%	40%	18%
			ciatrabina	61%	27%	15%
LÖWENBERG <i>et al.</i> , 1997	GM-CSF 157 placebo - 161	LMA "de novo" Pacientes aci- ma de 60 anos	daunorrubicina	56%	22%	14%
			citarabina	55%	22%	10%
HEIL <i>et al.</i> , 1995	GM-CSF - 41 placebo - 39	LMA "de novo"	citarabina	81%	43%	
			daunorrubicina etoposido	79%	41%	

* p < 0,05

2 - Redução no período de neutropenia em leucemia mielóide aguda

O tratamento quimioterápico das leucemias mielóides agudas está entre os mais intensos e mielotóxicos existentes. As infecções continuam sendo a principal causa de óbito neste grupo de pacientes, decorrente, principalmente, do longo período

de neutropenia a que estes pacientes são submetidos. O paciente idoso é particularmente afetado, com taxas de óbito que se aproximam dos 30% no período de neutropenia (YIN, 1997). Os estudos preliminares com fatores de crescimento mielóides mostraram redução, no período de neutropenia, em uma série de tumores sólidos. O começo do seu uso em leucemias mielóides foi bastante controverso, pois estudos *in vitro* demonstravam uma potencial estimulação do crescimento das células leucêmicas quando expostas aos fatores de crescimento (WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYN, 1996).

O primeiro estudo envolvendo o uso de um fator de crescimento mielóide após o tratamento de leucemia mielóide aguda foi apresentado em 1988, no encontro da Sociedade Americana de Hematologia, e publicado em 1991 por BÜCHNER *et al.* O estudo, um ensaio clínico não randomizado, comparou um grupo que utilizou GM-CSF após tratamento com tioguanina, citarabina e daunorrubicina nos pacientes com Leucemia mielóide aguda *de novo*, e mitoxantrona e citarabina nos pacientes com doença recaída com controles históricos do mesmo serviço. A taxa de remissão não tinha diferença significativa (50 para o grupo tratado *versus* 32% para o grupo controle com $P = 0,09$), embora a taxa de óbito precoce tenha apresentado uma redução significativa no grupo tratado (14% *versus* 39% com $P = 0,009$). Houve redução significativa no período de neutropenia. Dois pacientes apresentaram surgimento de células leucêmicas após o período de neutropenia sendo que, em um deles, este surgimento estava relacionado ao uso de GM-CSF e desapareceu após a sua suspensão. Devem-se ressaltar dois pontos importantes: o grupo tratado com GM-CSF era de pior prognóstico (idade média mais avançada e maior número de pacientes com recidiva precoce) e a amostra analisada era de pequeno tamanho (BÜCHNER *et al.*, 1991). Outro estudo da mesma época, publicado em 1990, também utilizou GM-CSF após quimioterapia com altas doses de citarabina em pacientes com leucemia mielóide aguda de diagnóstico recente. Assim como o trabalho de Büchner, este também foi um estudo não randomizado empregan-

do controles históricos. Os resultados, porém, diferiram do estudo anterior. Não se evidenciou alteração significativa no período de neutropenia, na taxa de óbito ou na taxa de remissão (ESTEY *et al.*, 1990). Dois estudos não randomizados, publicados mais recentemente, merecem citação. O primeiro é um pequeno estudo que envolve o tratamento de pacientes idosos com leucemia mielóide aguda *de novo*. Quando comparados com controles históricos, os pacientes tratados com G-CSF apresentaram período de neutropenia mais reduzido e menor taxa de óbito por infecção (8% *versus* 32% com $P = 0,04$). Apesar destes resultados, a taxa de remissão completa, sobrevida livre de doença e sobrevida global foram semelhantes entre os dois grupos (MASLAK *et al.*, 1996). O outro estudo envolve um subgrupo de pacientes provenientes do protocolo japonês de tratamento de leucemia mielóide aguda. Foram pacientes que utilizaram G-CSF no período de neutropenia após apresentarem infecções graves. Este grupo foi depois comparado com o restante dos pacientes no que diz respeito à sobrevida livre de doença. Observou-se uma tendência a melhor sobrevida livre de doença no grupo que recebeu G-CSF (60% *versus* 33% em 4 anos com $P = 0,078$). Duas conclusões podem emergir destes resultados: o uso de G-CSF, aparentemente, não estimula o crescimento de células leucêmicas e a maior intensidade do tratamento (que teve, como consequência, o aparecimento de infecções graves) redundou em um número maior de células leucêmicas mortas e na maior sobrevida livre de doença obtida (OHNO *et al.*, 1993).

Os primeiros estudos randomizados, envolvendo o uso de fatores de crescimento em leucemia mielóide aguda *de novo*, começaram a ser publicados na metade desta década.

Os dois primeiros foram publicados simultaneamente no *New England Journal of Medicine* em 1995. O estudo, conduzido pelo CALGB, avaliou o uso de GM-CSF após a quimioterapia de indução em pacientes idosos (acima de 60 anos), portadores de leucemia mielóide aguda. Foram randomizados um total de 388 pacientes para os dois

grupos de estudo. Houve diferença estatisticamente significativa nos dias de neutropenia após a quimioterapia, com redução média de dois dias no grupo que utilizou GM-CSF. Não se observou diferença nos dias de internação e na taxa de infecção. A taxa de remissão observada, bem como a taxa de óbito no período de aplasia foram semelhantes entre os dois grupos (STONE *et al.*, 1995). No mesmo número, o Grupo de Estudo Cooperativo de Leucemia Mielóide Aguda (europeu) publicou seu estudo randomizado, também envolvendo pacientes idosos (acima de 65 anos) que utilizaram G-CSF ou placebo após o tratamento quimioterápico. Um total de 173 pacientes foram estudados nos dois grupos. Neste estudo, observaram-se menor período de neutropenia e maior taxa de remissão no grupo que utilizou G-CSF. A taxa de sobrevida global, porém, não foi diferente entre os dois grupos, bem como a taxa de mortalidade em 8 semanas (23% para o grupo G-CSF e 27% para o grupo placebo) (DOMBRET *et al.*, 1995). Nos dois estudos, a taxa de recidiva, após o término da quimioterapia foi semelhante entre os dois grupos. Isto indica que nenhum dos dois fatores de crescimento estimulou o crescimento de células leucêmicas após a quimioterapia. ROWE *et al.*, em 1995, também publicaram um estudo envolvendo o tratamento de pacientes idosos (acima de 55 anos) portadores de leucemia mielóide aguda. Foi utilizado GM-CSF 11 dias após o início da quimioterapia de indução com citarabina e daunorubicina. O período de neutropenia foi reduzido de maneira significativa no grupo que utilizou GM-CSF em relação ao que utilizou placebo. A toxicidade por infecção e a sobrevida total foram também reduzidas significativamente no grupo que usou fator de crescimento. A taxa de remissão, a sobrevida livre de doença, a mortalidade no período de aplasia e o período médio de internação não foram diferentes entre os dois grupos (ROWE *et al.*, 1995). No encontro da Sociedade Americana de Hematologia (ASH), em dezembro de 1995, dois outros estudos randomizados foram apresentados. HEIL *et al.*, em um grande ensaio clínico randomizado, avaliaram a utilização de G-CSF após a indução. Observou-se redução significativa no período de neutropenia, dias de febre, dias de uso de antibióticos

parenterais e dias de internação. A taxa de remissão obtida e a taxa de sobrevida global, entretanto, foram semelhante entre os dois grupos (HEIL *et al.*, 1997). O estudo realizado pelo SWOG, e também apresentado no encontro da ASH, envolvia o uso de G-CSF em pacientes idosos (acima de 55 anos). Um total de 193 pacientes foram randomizados para receber G-CSF (93 pacientes) ou placebo (100 pacientes). Observou-se redução no período de neutropenia, no uso de antibióticos parenterais e nos dias de febre. A duração da hospitalização, a taxa de óbito no período de aplasia, a taxa de remissão completa e a sobrevida livre de doença não diferiram entre os dois grupos (GODWIN, KOPECKY, HEAD, HYNES, BALCERZAK e APPELBAUM, 1995). Outro estudo randomizado foi apresentado em 1996 no encontro da ASH. Envolvia o uso de G-CSF após quimioterapia para leucemia mielóide aguda. Um total de 187 pacientes foram randomizados para receber G-CSF na dose de $150 \mu\text{g}/\text{m}^2$ ou placebo 24 horas após o término da quimioterapia. Observou-se redução significativa no período de neutropenia após a quimioterapia e na taxa de remissão. A incidência de episódios infecciosos não foi diferente entre os dois grupos (LINK *et al.*, 1996). A tabela 3 resume os ensaios clínicos citados.

TABELA 3 - COMPARAÇÃO ENTRE OS ENSAIOS CLÍNICOS COM FATOR DE CRESCIMENTO EM PACIENTES COM LEUCEMIA AGUDA

AUTORES	n (FATOR / PLACEBO)	PATOLOGIAS	QUIMIOTERAPIA	DIAS NEUTROPENIA	DIAS INTERNAÇÃO	DIAS FEBRE OU INCIDÊNCIA DE FEBRE	DIAS USO ANTIBIOTICOS	TAXA REMISSÃO	TAXA ÓBITO
STONE <i>et al.</i> , 1995	GM-CSF - 193 placebo - 195	LMA (idade maior que 60 anos)	citarabina daunorrubicina	15 dias* 17 dias	28 dias 30 dias			51% 54%	27% 23%
DOMBRET <i>et al.</i> , 1995	G-CSF - 88 placebo - 85	LMA (idade maior que 65 anos)	citarabina daunorrubicina	21 dias** 27 dias				70%* 47%	23% 27%
HEIL <i>et al.</i> , 1997	G-CSF n=521 Placebo	LMA	daunorrubicina citarabina etoposido	redução de 5 dias*	20 dias* 25 dias	7 dia* 8,5 dias	15 dias* 18,5 dias	69% 68%	
GODWIN <i>et al.</i> , 1995	G-CSF - 93 placebo - 100	LMA (idade maior que 55 anos)	daunorrubicina citarabina	redução de 3 dias*	não altero	reduziu*	reduziu*	42% 49%	17% 14%
ROWE <i>et al.</i> , 1995	GM-CSF - 60 placebo - 57	LMA (idade acima de 55 anos)	daunorrubicina citarabina	13 dias* 17 dias	36 dias 38 dias			60% 44%	3/52 7/47
LINK <i>et al.</i> , 1996	G-CSF - 93 placebo - 94	LMA	não mencionado	12,6 dias* 18,2 dias		62,4% 57,4%		60,2%* 43,6%	

* p < 0,05

**neutropenia abaixo de 1000/mm³

Uso de fatores de crescimento em leucemia linfóide aguda *de novo*

O tratamento da leucemia linfóide aguda em crianças tem obtido excelentes resultados, com sobrevida livre de doença em 5 anos de até 70% (WELTE *et al.*, 1996). Entretanto, ainda existem subgrupos dentro da leucemia linfóide aguda que não apresentam resultados tão bons. São os chamados grupos de alto risco como os que apresentam translocação envolvendo o cromossoma 9 e 22 – cromossoma Filadélfia – e os que demoram para entrar em remissão no período de indução. A tentativa de melhorar os resultados deste subgrupo de pacientes é conduzida através do aumento na intensidade do tratamento quimioterápico, bem como no número de drogas administradas. O grande problema que surge com esta abordagem é a mielossupressão intensa e prolongada, com o conseqüente aumento na incidência de febre e infecções. Para tentar reduzir estes parafeitos, são empregados os fatores de crescimento.

O estudo de CALDERWOOD *et al.*, realizado no Canadá, envolveu crianças portadoras de leucemia linfóide aguda de alto risco. Estas crianças foram randomizadas para receber GM-CSF ou placebo no período de intensificação do tratamento. Não houve qualquer diferença significativa entre os grupos em relação aos dias de neutropenia, dias de internação, dias de incidência de febre, dias de uso de antibióticos e taxa de remissão. Não houve óbito durante o estudo. A amostra era de somente 40 pacientes (CALDERWOOD *et al.*, 1994). Outro estudo desenvolvido em crianças com leucemia linfóide aguda de alto risco foi realizado na Alemanha pelo grupo BFM. Em um estudo randomizado, 87 crianças foram consideradas de alto risco. Destas, 34 foram randomizadas para receber G-CSF ou placebo no período de consolidação, que se estende durante nove blocos de quimioterapia. Houve redução significativa no número de dias

totais de neutropenia , número de dias de febre e número de dias de uso de antibióticos. Apesar destes resultados, não houve diferença na taxa de remissão obtida e na taxa de óbito durante o período de tratamento. A sobrevida livre de doença estimada, em 4 anos, também foi igual nos dois grupos (WELTE et al., 1996).

Alguns ensaios clínicos randomizados também foram realizados em adultos com leucemia linfóide aguda. O estudo feito pelo CALGB (*Cancer and Leukemia Group B*) comparou o uso de G-CSF *versus* placebo, após um esquema quimioterápico intensivo na fase de indução e consolidação. Ocorreu uma redução significativa nos dias de neutropenia para os pacientes abaixo e acima de 60 anos no período após a indução, bem como redução no período de plaquetopenia abaixo de $50.000/\text{mm}^3$ nos pacientes acima de 60 anos, também após o período de indução. Não se evidenciaram diferenças significativas na duração da neutropenia após a consolidação, nos dias de internação e no número de dias para se completarem as duas etapas do tratamento quimioterápico. Também não houve diferença estatisticamente significativa na taxa de remissão completa, número de óbitos e infecções severas (LARSON *et al.*, 1994). Da Alemanha vem um estudo envolvendo o uso de G-CSF em pacientes adultos portadores de leucemia linfóide aguda durante o período de indução quimioterápica. Nele é relatado que se obteve uma redução significativa no período de neutropenia (8 *versus* 12,5 dias – $P = 0,002$). A taxa de infecção e a sobrevida livre de doença não diferiram entre os dois grupos (OTTMANN *et al.*, 1995). Outro pequeno ensaio clínico desenvolvido na Alemanha, comparando o uso de G-CSF *versus* placebo como adjuvante no tratamento de leucemia linfóide aguda, demonstrou uma redução significativa no período de neutro-

penia abaixo de $1000/\text{mm}^3$ durante a indução. Houve também redução significativa na incidência de febre no período de neutropenia e também nas infecções documentadas. A taxa de remissão obtida foi semelhante nos dois grupos, assim como a taxa de óbito durante o período de indução (GEISLER *et al.*, 1997). Um estudo não randomizado, que envolveu 26 pacientes tratados no hospital *St. Bartholomew* em Londres, onde se utilizou GM-CSF durante e após a indução de remissão em pacientes adultos portadores de leucemia linfóide aguda, não demonstrou diferença na taxa de remissão, sobrevida livre de doença e taxa de infecção em relação aos que não utilizaram (PAPAMICHAEL *et al.*, 1996). A tabela 4 resume os ensaios clínicos citados.

TABELA 4 - USO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM LEUCEMIAS LINFÓIDES AGUDAS

AUTORES	n (FATOR/ PLACEBO)	PATOLOGIA	QUIMIOTERAPIA	DIAS NEUTROPENIA	DIAS INTERNAÇÃO	DIAS FEBRE OU INCIDÊNCIA DE FEBRE	DIAS USO ANTIBIÓTICO	TAXA REMISSÃO	TAXA ÓBITO
CALDERWOOD <i>et al.</i> , 1994	GM-CSF - 20 Placebo - 20	LLA alto risco (crianças)	ciclofosfamida citarabina 6-mercaptopurina	6 dias 7,5 dias	4,5 dias 6 dias	3 dias 2 dias	5,5 dias 6 dias	18/20 20/20	
WELTE <i>et al.</i> , 1996	G-CSF - 17 placebo - 17	LLA alto risco (crianças)	BFM 90	6,2 dias* 20,3 dias		7,1 dias* 12,6 dias	18,2 dias* 32,2 dias	15/17 13/17	2/17 0/17
LARSON <i>et al.</i> , 1994	184 pacientes randomizados para G-CSF ou placebo	LLA adultos	Ciclofosfamida, vincristina, daono- rubicina, predniso- na, L-asparaginase	menor no gru- po que utilizou G-CSF*	igual	igual	G-CSF 91% placebo 80%	G-CSF 4% placebo 11%	
GEISSER <i>et al.</i> , 1997	G-CSF 25 placebo 26	LLA adultos	daunorubicina, vincristina, prednisona, L-as- paraginase	16 dias* 26 dias (contagem acima de 1000/mm ³)		12%* 42%	96% 80%	1/25 2/26	
OTTMANN <i>et al.</i> , 1995	G-CSF - 37 sem fator - 39	LLA adultos	ciclofosfamida citarabina mercaptopurina	8 dias 12,5 dias		35% 47%	35/37 37/39	0/37 2/39	

* P < 0,05

Uso de fatores de crescimento em leucemias agudas, recaídas ou refratárias

O tratamento de leucemias agudas, recaídas ou refratárias ao tratamento inicial, emprega doses elevadas de quimioterápicos (as chamadas altas doses) para tentar superar a resistência das células leucêmicas às doses convencionais. Obtêm-se taxas de remissão que são inferiores às obtidas com o tratamento inicial e a sobrevida livre de doença média é curta. A falha em se alcançar uma melhor resposta ao tratamento, nesta situação, decorre de dois motivos: o primeiro é a resistência à quimioterapia e que não consegue ser superada pelo aumento das doses dos quimioterápicos; o segundo é o prolongado período de pancitopenia a que estes pacientes são submetidos, levando a um risco aumentado de sangramento, a uma alta taxa de infecção e, conseqüentemente, a uma mortalidade elevada.

Um estudo proveniente do Japão foi o primeiro ensaio clínico a empregar fatores de crescimento no tratamento de leucemias. Foi desenvolvido em pacientes portadores de leucemias agudas, recidivadas ou refratárias. Um total de 108 pacientes (67 com leucemia mielóide aguda, 30 com leucemia linfóide aguda, 9 com crise blástica de leucemia mielóide crônica e 2 com leucemia aguda após mielodisplasia) foram randomizados para receber ou não G-CSF. Os pacientes que receberam G-CSF recuperaram-se do período de neutropenia uma semana antes, em média, em relação aos que não o utilizaram. A incidência de febre foi semelhante entre os dois grupos, embora a taxa de infecções documentadas tenha sido significativamente menor no grupo que usou G-CSF ($P = 0,028$). A taxa de remissão foi semelhante entre os dois grupos, com uma tendência a favor do grupo que usou fator de crescimento (50% versus 36%, $P = 0,07$). A taxa de refratariedade à quimioterapia nos dois grupos foi semelhante (OHNO *et al.*, 1990). Também pelo mesmo grupo foi testado o uso de G-CSF, começando dois dias antes da quimioterapia em pacientes portadores de leucemia mielóide aguda, recaída

ou refratária. Não houve diferença significativa na taxa de remissão obtida, bem como na sobrevida global. A incidência de febre e de infecções documentadas foi semelhante nos dois grupos (OHNO *et al.*, 1994). Os resultados estão sumarizados na tabela 5.

TABELA 5 - ENSAIOS CLÍNICOS DO USO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM LEUCEMIAS AGUDAS RECAÍDAS/REFRATÁRIAS

AUTORES	n (FATOR / PLACEBO)	PATOLOGIAS	QUIMIOTERAPIA	TAXA REMISSÃO	SOBREVID A GLOBAL	TAXA ÓBITO
OHNO <i>et al.</i> , 1990	G-CSF - 48 pacientes	LMA refratária ou recaída	citarabina mitoxantrona etoposido	50%	20% (1 ano)	4/48
	placebo - 50 pacientes			36%		12%
OHNO <i>et al.</i> , 1994	G-CSF - 28	LMA refratária ou recaída	citarabina mitoxantrona etoposido	50%	20%	1/28
	placebo - 30			37%		18%

Não houve diferença estatisticamente significativa.

Os demais estudos disponíveis envolvendo o uso de fatores de crescimento em leucemias agudas, recaídas ou refratárias, não são ensaios clínicos randomizados. CANNISTRA *et al.* Apresentaram, em 1991, a sua experiência com três casos de leucemia mielóide aguda recaída em que foi utilizado GM-CSF, antes e após a quimioterapia com altas doses de citarabina. Não havia grupo controle e ocorreu um óbito por tamponamento cardíaco, um por refratariedade da leucemia e uma remissão completa (CANNISTRA *et al.*, 1991). No ano de 1993, um grupo francês utilizou GM-CSF juntamente com a quimioterapia de altas doses (mitoxantrona, etoposido e citarabina) em portadores de leucemia mielóide aguda, recaídos ou refratários. O fator de crescimento não foi utilizado após a quimioterapia já que a intenção de seu uso era apenas estimular as células leucêmicas. Um grupo controle histórico foi utilizado para comparação. Não se evidenciou qualquer diferença entre os dois grupos. Obteve-se remissão

em 30% dos pacientes, 55% não responderam à terapia e 15% morreram no período de aplasia (ARCHIMBAUD *et al.*, 1993). A combinação de fludarabina, citarabina e G-CSF foi testada por um grupo italiano em 28 pacientes portadores de leucemia mielóide aguda recaídas, refratárias (18 pacientes) ou secundárias a mielodisplasias (10 pacientes). Obteve-se remissão em 58% dos pacientes, porém, entre os recaídos, a taxa foi de apenas 11%. Ocorreram apenas dois óbitos durante o período de aplasia (VISANI *et al.*, 1994). No Japão, outro estudo avaliou uma série de 18 pacientes portadores de leucemia mielóide aguda recidivados que foram submetidos a um esquema de quimioterapia que empregava doses baixas de citarabina, associada a aclarubicina (uma antraciclina) e G-CSF. Obteve-se remissão em 85% dos pacientes. A sobrevida mediana obtida foi de 17 meses. Não havia grupo controle para comparação (YAMADA *et al.*, 1995).

Outros usos em leucemias agudas

Além dos usos já citados, existem descrições de outras aplicações dos fatores de crescimento em leucemias agudas. O G-CSF foi empregado em sete pacientes portadores de leucemia aguda ou mielodisplasias que recaíram no primeiro ano após transplante de medula óssea alogênico. Foi obtida remissão completa (hematológica e citogenética) em 3 dos pacientes, com restabelecimento da hematopoiese originária do doador. Destes três pacientes, dois se mantiveram em remissão após dez e onze meses do uso de G-CSF (GIRALT *et al.*, 1993). A crítica feita a este relato foi de que, simultaneamente ao uso de G-CSF, foi suspensa a utilização de imunossupressores, com o aparecimento de uma reação enxerto contra hospedeiro (e também enxerto contra leucemia) o que, sabidamente, pode redundar em remissão da doença de base (DE WITTE e SCHATTEBERG, 1994). Outro relato de caso envolveu o uso de G-CSF em uma paciente com leucemia hipoplásica, apresentando-se simultaneamente com uma pneumo-

nia. Houve melhora transitória das contagens de neutrófilos, plaquetas e eritrócitos e redução no número de blastos na medula óssea, caracterizando um período de remissão completa por dois meses. Foi demonstrada uma estimulação nos precursores normais da medula óssea, sem estimulação no clone leucêmico (YANAGISAWA, YANO, TAKAA, YASUKAWA e FUJITA, 1994). GM-CSF foi empregado em outro paciente, portador de leucemia mielóide aguda minimamente diferenciada, e que se apresentava com pneumonia, neutropenia e contagem de blastos relativamente baixa na periferia. A remissão obtida durou 9 meses e, na recidiva, novo curso de GM-CSF foi administrado, o que redundou numa segunda remissão que durou 5 meses (BASSAN, RAMBALDI, AMARU, MOTTA e BARBUI, 1994).

Dois relatos de caso provenientes do Japão descrevem o uso simultâneo de tretinoína (ácido transretinóico, um análogo da vitamina A) e G-CSF em portadores de leucemia promielocítica recidivados. Nos dois relatos, houve obtenção de remissão completa, embora não haja descrição do seguimento destes pacientes (USUKI, IKEDA, KITAZUME, IWABE, OKUYAMA e URABE, 1994; NAKAJIMA, HATAKE, MIYATA, MUROI, KOMATSU e MIURA, 1994).

2.4 - USO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM TUMORES SÓLIDOS

Uso Primário dos Fatores de Crescimento

Entende-se como uso primário dos fatores de crescimento aquelas situações onde eles são administrados com a intenção de reduzir o período de neutropenia e de

febre em pacientes que não tenham apresentado episódio de neutropenia febril em ciclo prévio de quimioterapia.

O primeiro estudo, publicado envolvendo o uso clínico dos fatores de crescimento, ocorreu em 1987. Tratava-se de um estudo fase I/II, utilizando G-CSF em 12 pacientes portadores de câncer de pulmão, de pequenas células, que receberam quimioterapia. Na fase I, foram testadas diferentes doses de G-CSF administrado por infusão contínua e, na fase II, os pacientes receberam a mesma dose de G-CSF testada por 14 dias, em ciclos alternados de quimioterapia, funcionando cada paciente como seu controle nos ciclos em que não havia administração da mesma. Houve redução no período de neutropenia da ordem de 80%; houve 6 episódios de infecção quando os pacientes não receberam o G-CSF e nenhum episódio quando o receberam (BRONCHUD *et al.*, 1987). Chama a atenção, neste estudo, a rapidez entre a descrição do G-CSF recombinante, que ocorreu em 1986, e a sua aplicação clínica descrita já em 1987.

No ano seguinte, mais estudos com desenhos semelhantes (fase I/II) são publicados. Os resultados são semelhantes aos obtidos no estudo de BRONCHUD *et al.*: redução significativa no período de neutropenia (MORSTYN *et al.*, 1988) e redução significativa no período de neutropenia, número de dias de uso de antibióticos e na incidência de mucosite (GABRILOVE *et al.*, 1988). Neste mesmo ano, é publicado o primeiro ensaio clínico envolvendo o uso de GM-CSF para reduzir o período de neutropenia após quimioterapia. Os resultados deste estudo fase I/II são semelhantes aos obtidos com G-CSF, com redução significativa no período de neutropenia após o seu uso (ANTMANN *et al.*, 1988).

O ano de 1991 marca a publicação do primeiro ensaio clínico envolvendo G-CSF. Em um estudo randomizado, duplo-cego e multicêntrico, envolvendo mais de

200 pacientes, CRAWFORD *et al.* demonstraram uma redução significativa no período de neutropenia, nos episódios de febre na vigência de neutropenia, no total de dias de internação e no total de dias de uso de antibióticos. Não houve diferença em relação à obtenção de remissão e na sobrevida global (CRAWFORD *et al.*, 1991). Este trabalho, juntamente com os já citados acima, tiveram importância decisiva na aprovação, pelo FDA, do G-CSF (filgrastima) para proteção contra neutropenia febril induzida por Quimioterapia (GABRILOVE, 1992).

A tabela 6 demonstra alguns dos principais ensaios clínicos envolvendo G-CSF ou GM-CSF.

TABELA 6 - COMPARAÇÃO ENTRE OS ENSAIOS CLÍNICOS COM FATOR DE CRESCIMENTO EM PACIENTES COM TUMORES SÓLIDOS

AUTORES	n (FATOR/ PLACEBO)	PATOLOGIAS	QUIMIOTERAPIA	DIAS NEUTROPENIA (NÚMERO DE DIAS ABSOLUTO OU % DE EPISÓDIOS DE NEUTROPENIA ABAIXO DE 500/mm ³)	DIAS INTERNA- ÇÃO OU TAXA DE INTERNAÇÃO	DIAS FEBRE OU INCIDÊNCIA DE FEBRE	DIAS USO ANTI- BIOTICOS	TAXA REMISSÃO PARCIAL OU COMPLETA	TAXA ÓBITO OU SOBREVIVÊNCIA MÉDIA
TRILLET- LENOIR <i>et al.</i> , 1993	G-CSF - 65	Carcinoma pulmo- nar de pequenas células	ciclofosfamida etoposido doxorrubicina	6 dias**	39%	37%*		79%	8,9 meses
	placebo - 64			15 dias	58%	58%		87%	9,5 meses
CRAWFORD <i>et al.</i> , 1991	G-CSF - 101	Carcinoma pulmo- nar de pequenas células	ciclofosfamida etoposido doxorrubicina	3 dias*	2,2 dias*	28%*	1,25 dias*	72%	11,4 meses
	placebo - 110			6 dias	4,2 dias	57%	2,25 dias	80%	12,2 meses
BUNN <i>et al.</i> , 1995	GM-CSF - 107	Carcinoma pulmo- nar de pequenas células	cisplatina etoposido radioterapia	24%*	9,7 dias	sem diferença (citado)	3,3 dias	73%	14 meses
	placebo - 108			18%	5,2 dias*	2,6 dias	86%	17 meses	
GERHARTZ <i>et al.</i> , 1993	GM-CSF - 87	Linfoma não hodgkin alto grau de malignidade	COP-BLAM	reduzido no grupo GM- CSF (análise feita por ci- clo)	3,5 dias*	2,1 dias*	3,2 dias*	85%	15,6 meses
	placebo - 85				8 dias	4 dias	8 dias	81%	15,9 meses
ZINZANI <i>et al.</i> , 1997	G-CSF - 77	Linfoma não Hodgkin alto grau em idosos	ciclofosfamida mitoxantrona vincristina etoposido bleomicina prednisona	23%				60%	68%
	placebo - 72			55,5%				58%	65%
PETTENGELE <i>et al.</i> , 1992	G-CSF - 41	Linfoma não hodgkin	VAPEC-B	32%*	20%	20%		90%	6/41 (óbito)
	placebo - 39			72%	20%	30%		92%	4/39
CHEVALIER <i>et al.</i> , 1995	G-CSF - 61	Câncer mama inflamatório	fluorouracil epirrubicina ciclofosfamida	2 dias*	3,7 dias*	59%	8,7 dias*	93%	62%
	placebo - 59			5 dias	8,3 dias	71,2%	15,4 dias	89,6%	67%
JONES <i>et al.</i> , 1996	GM-CSF - 70	Câncer mama es- tadio II e III	fluorouracil doxorrubicina ciclofosfamida	2,8 dias*		2/70		97%	0/70 (óbito)
	placebo - 72			6,8 dias	4/72	92%	1/72		
Bui <i>et al.</i> , 1995	G-CSF - 57	Sarcoma de partes moles	doxorrubicina ifosfamida dacarbazina	0 dias (mediana)*	18%	23%*			não houve óbito
	placebo - 44			5 dias (mediana)	35%	58%			
WEXLER <i>et al.</i> , 1996	GM-CSF - 19	Sarcomas em crianças	poliquimioterapia	7 dias*	0 dias mediana	0 dias mediana	8 dias mediana	82%	56,1%
	placebo - 18			9 dias	0 dias	0 dias	7 dias	87%	53,5%
HARTMANN <i>et al.</i> , 1997	G-CSF - 71	vários	vários	2 dias*	6 dias mediana		5 dias mediana		1/71
	placebo - 67			4 dias	5 dias	5 dias		1/67	

* P < 0,05 ** dias de neutropenia abaixo de 1.000/mm³ em todos os ciclos de quimioterapia

Em dois dos trabalhos que envolvem o uso de G-CSF em pacientes portadores de câncer de pulmão de pequenas células, ocorreu redução significativa no período de neutropenia e dias de febre. Não houve diferença na taxa de remissão e na sobrevida global (CRAWFORD *et al.*, 1991; TRILLET-LENOIR *et al.*, 1993). O estudo de BUNN e col. envolvia o uso de GM-CSF em pacientes portadores de câncer de pulmão de pequenas células, submetidos a quimioterapia e radioterapia. Os resultados obtidos foram um pouco piores no grupo que utilizou GM-CSF, exceto no que diz respeito ao período de neutropenia. Não houve diferença na taxa de remissão e na sobrevida global. Ocorreram mais mortes tóxicas no grupo que utilizou GM-CSF (9 *versus* 1 - $P < 0,01$) (BUNN *et al.*, 1995).

Os trabalhos que envolvem linfoma não Hodgkin não mostram resultados muito diferentes. O de GERHARTZ *et al.* demonstrou redução significativa no período de neutropenia, dias de internação, dias de febre e dias de uso de antibióticos nos pacientes que utilizaram GM-CSF. Não houve diferença na taxa de remissão e na sobrevida global (GERHARTZ *et al.*, 1993). Em um estudo relativamente pequeno, envolvendo o uso de G-CSF em portadores de linfoma não Hodgkin, não se evidenciaram diferenças entre os dois grupos, exceto uma redução significativa nos dias de neutropenia. Não houve qualquer diferença na taxa de remissão ou no número de óbitos durante o período de tratamento (PETTENGELL *et al.*, 1992). O estudo conduzido por ZIZANI *et al.* em pacientes idosos portadores de linfoma não Hodgkin submetidos a quimioterapia testou a utilização de G-CSF. Neste grupo de pacientes, em que a idade por si só é um fator prognóstico desfavorável, também não ocorreram diferenças significativas entre o grupo tratado e o grupo controle, no que diz respeito à taxa de remissão e sobrevida global. Como nos outros estudos, houve redução significativa na incidência de neutropenia e uma redução na incidência de infecções relevantes (dado não mostrado na tabela). Outro objetivo do estudo era obter uma maior intensidade de dose no grupo que recebeu G-CSF, fato este que não ocorreu (ZINZANI *et al.*, 1997). Outro estudo

publicado em 1997 envolveu o uso de G-CSF em pacientes portadores de tumores sólidos diversos e não demonstrou qualquer benefício na taxa de internação, dias de internação, dias de uso de antibióticos e número de culturais positivos. Não foi informada a taxa de remissão e sobrevida global. Ocorreu uma morte em cada grupo, ambas por sepse (HARTMANN *et al.*, 1997).

Alguns ensaios clínicos têm sido publicados recentemente envolvendo o uso de fatores de crescimento no tratamento quimioterápico do câncer de mama. O G-CSF foi utilizado para prevenir morbidade em pacientes com de câncer de mama inflamatório submetidos a quimioterapia. Um total de 120 pacientes foram tratadas em 5 centros franceses. Ocorreu uma redução significativa no período de neutropenia, nos dias de hospitalização e dias de uso de antibióticos. Não houve diferença na incidência de febre, na taxa de remissão e na sobrevida global em 3 anos (CHEVALLIER *et al.*, 1995). Outro estudo envolveu o uso de GM-CSF no tratamento quimioterápico de câncer de mama estágio II ou III. Não houve diferença significativa na taxa de remissão e a taxa de óbito foi extremamente baixa (apenas um óbito no grupo placebo). A intensidade de dose, outro ponto de análise do estudo, apresentou média maior no grupo que utilizou GM-CSF. Os próprios autores discutem a necessidade de se utilizarem fatores de crescimento nesta circunstância, em que a incidência de episódios febris é baixa e as internações são infreqüentes (JONES *et al.*, 1996).

Um ensaio clínico realizado em portadores de sarcoma de partes moles revelou diferença significativa, na mediana de dias de neutropenia e na taxa de febre, favorável ao grupo que utilizou G-CSF. Não houve mortes por toxicidade da quimioterapia e a taxa de remissão obtida não foi subdividida pelos grupos em estudo (BUI *et al.*, 1995). Outro estudo envolvendo o tratamento quimioterápico de sarcomas, desta vez realizado em crianças, empregou o GM-CSF para reduzir a toxicidade de um esquema intensivo de terapia. Os resultados foram decepcionantes, não ocorrendo

alterações na incidência de febre, duração da hospitalização, taxa de remissão e sobrevida global. Houve, inclusive, um aumento significativo no período de recuperação e na severidade da plaquetopenia (WEXLER *et al.*, 1996).

Um trabalho interessante realizado na Itália envolveu a comparação entre G-CSF e GM-CSF utilizado imediatamente após quimioterapia com altas doses de ciclofosfamida. A recuperação das contagens de neutrófilos ocorreu mais rapidamente no grupo que utilizou G-CSF (11,5 dias *versus* 13,2 dias; $P = 0,01$), porém a recuperação das contagens de plaquetas ocorreu mais rapidamente com o uso de GM-CSF ($P = 0,01$). Não houve diferença significativa na incidência de febre e no uso de antibióticos (BREGNI *et al.*, 1996).

Outros estudos não randomizados ou com pequeno número de pacientes também não demonstraram benefícios significativos com o uso de fatores de crescimento. Um deles avaliou pacientes portadores de linfoma não Hodgkin de alto grau submetidos a quimioterapia e randomizados para utilizar GM-CSF ou placebo. Houve um menor período de neutropenia no grupo que utilizou GM-CSF. A taxa de remissão e a sobrevida global não foram diferentes entre os grupos (BERGMANN, TARAKAS, KNUTH, LAUTENSCHLÄGER, MITROU e HOELZER, 1995). Outro estudo pequeno randomizado realizado em portadoras de câncer de mama metastático, submetidas a quimioterapia e após randomizadas para GM-CSF, não demonstrou diferenças significativas na frequência de febre e no uso de antibióticos. Houve redução significativa no período de neutropenia. A taxa de remissão não apresentou diferença significativa entre o grupo que utilizou GM-CSF e placebo (HANSEN, STENBYGAARD e SKOVSGAARD, 1995).

Uso Secundário dos Fatores de Crescimento

Entende-se como uso secundário dos fatores de crescimento aquelas situações onde eles são administrados com a intenção de reduzir a probabilidade de ocorrer neutropenia febril em pacientes que tenham apresentado episódio de neutropenia febril em ciclo prévio de quimioterapia. Na literatura revisada, não foi encontrado nenhum estudo randomizado que tivesse como objetivo avaliar o uso secundário de fatores de crescimento. As recomendações da Associação Americana de Oncologia Clínica consideram o uso de fatores de crescimento nesta situação como uma alternativa válida para redução de dose do esquema quimioterápico em ciclos subsequentes (*AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY*, 1994).

Uso Como Adjuvante no Tratamento de Neutropenia Febril

Neutropenia febril é uma complicação freqüente e potencialmente fatal do tratamento quimioterápico. A comparação de diferentes esquemas de antibióticos não demonstrou diferenças significativas entre eles. A disponibilidade dos fatores de crescimento permitiu uma nova abordagem desta situação clínica, numa tentativa de restabelecer ou melhorar as defesas dos pacientes. Diversos estudos randomizados já foram publicados e estão sumarizados na tabela 7.

TABELA 7 - COMPARAÇÃO ENTRE OS ENSAIOS CLÍNICOS COM FATOR DE CRESCIMENTO USADO COMO ADJUVANTE NO TRATAMENTO DE NEUTROPENIA FEBRIL

AUTORES	n (FATOR/ PLACEBO)	PATOLOGIAS	DIAS NEUTROPENIA	DIAS INTERNAÇÃO	DIAS FEBRE	MODIFICAÇÃO DO ESQUEMA INICIAL OU DIAS DE ANTIBIÓTICOS	TAXA REMISSÃO	TAXA ÓBITO
MAYORDOMO <i>et al.</i> , 1995	G-CSF - 39	tumores sólidos	2 dias*	5 dias*	1 dia	8/39		4/39
	GM-CSF - 39		2 dias	5 dias	2 dias	15/39		2/39
	placebo - 43		3 dias	7 dias	2 dias	13/40		2/39
RIIKONEN <i>et al.</i> , 1994	GM-CSF - 28	tumores sólidos ou LLA	4,5 dias*	252 dias**	2,1 dias	3/28		
	placebo - 30		6 dias	354 dias	2,3 dias	3/30		
MAHER <i>et al.</i> , 1994	G-CSF - 109	tumores sólidos + LLA	3,3 dias*	8,7 dias	4,1 dias	46%		11%
	placebo - 107		4,3 dias	10 dias	5,1 dias	41%		14%
		subgrupo LLA	6,1 dias (n = 10)	10,3 dias	6,3 dias			
			6,9 dias (n = 12)	13,3 dias	7,4 dias			
MITCHELL <i>et al.</i> , 1997	G-CSF n = 186	LLA LMA	3 dias*	5 dias*	2 dias	5 dias*		não houve óbito no estudo
	placebo	tumores sólidos	5 dias	7 dias	3 dias	6 dias		
VELLENGA <i>et al.</i> ,	GM-CSF - 65	tumores sólidos ou hematológicos	4 dias‡	6 dias	3 dias	**		
	placebo - 69		4 dias	7 dias	3 dias			
ANAISSIE <i>et al.</i> , 1996	GM-CSF - 50	leucemias agu- das e tumores sólidos	8 dias	9 dias	4 dias	2 / 50		7%
	placebo - 50		7 dias	10 dias	4 dias	9 / 50		7%
BIESMA <i>et al.</i> , 1990	GM-CSF - 15	tumores sólidos	2 dias		2,9 dias	10,8 dias		1/15
	placebo - 15		2 dias		2,4 dias	9,6 dias		0/15

* $p < 0,05$

** em toda a população

‡ neutrófilos abaixo de $1.000/mm^3$

** aumento no custo hospitalar de maneira significativa ($p < 0,05$)

O primeiro trabalho envolvendo esta abordagem de tratamento com fatores de crescimento foi realizado na Austrália e publicado em 1994. Este estudo randomizado envolveu mais de 200 pacientes com neutropenia febril que foram randomizados para utilizar G-CSF ou placebo administrados até 12 horas após o início dos antibióticos (tobramicina e piperacilina). Houve redução significativa no período de neutropenia. Não houve, no entanto, diferenças entre os dois grupos nos dias de febre, dias de internação, número de dias de uso de antibióticos e utilização de esquemas alternativos. Os óbitos se distribuíram igualmente entre os dois grupos em estudo. Na análise do subgrupo portador de LLA, também não houve diferenças significativas entre os pacientes que utilizaram G-CSF ou placebo, inclusive no que tange aos dias de neutropenia (MAHER, 1994). O estudo realizado por MAYORDOMO *et al.* comparou G-CSF, GM-CSF e placebo em um ensaio clínico realizado na Espanha. Houve diferença de discutível vantagem clínica para os pacientes que utilizaram fatores de crescimento no que diz respeito aos dias de neutropenia e dias de internação (redução de 1 dia e 2 dias, respectivamente). Não houve diferenças entre os dois fatores de crescimento. Os autores relatam uma tendência de custo global menor com o uso de fatores de crescimento ($P = 0,11$) (MAYORDOMO *et al.*, 1995). Outro estudo randomizado de menores proporções, realizado na Finlândia, demonstrou redução significativa no período de neutropenia e no número de dias de uso de antibióticos nos pacientes que utilizaram GM-CSF. O número de dias de febre não foi diferente entre os dois grupos. Não existem informações sobre óbitos por infecção neste estudo. Os autores acreditam que o GM-CSF, como foi utilizado, reduziu o custo de tratamento dos episódios de neutropenia febril (RIIKONEN *et al.*, 1994). ANAISSIE *et al.*, em estudo realizado no M.D. Anderson Cancer Center, em portadores de tumores sólidos e leucemias, não encontraram benefício no uso de GM-CSF associado a ticarcilina-clavulanato e netilmicina no tratamento de neutropenia febril. A duração da neutropenia foi de 8 dias no grupo placebo e de 7 dias no grupo que recebeu GM-CSF, e esta diferença não apresentou significância estatística. Embora a taxa de

resposta ao tratamento tenha sido significativamente maior no grupo tratado com GM-CSF (96% *versus* 82% - $P = 0,03$), a taxa de sobrevida foi semelhante entre os dois grupos. Os autores sugerem que novos trabalhos devam ser feitos para identificar subgrupos (ex.: neutropenia prolongada ou infecções refratárias a terapia antimicrobiana) que se beneficiem com o uso de fatores de crescimento (ANAISSIE *et al.*, 1996). O estudo de BIESMA *et al.* não mostrou redução nos dias de febre e de uso de antibióticos entre o grupo que utilizou GM-CSF e o grupo que usou placebo. A taxa de óbito foi muito pequena para se tirar alguma conclusão. A amostra pequena e o fato de estarem misturados pacientes submetidos a quimioterapia convencional e a transplante autólogo de medula óssea retira a relevância dos resultados obtidos (BIESMA *et al.*, 1990). Outro trabalho mais recente, envolvendo o uso de GM-CSF no tratamento de neutropenia febril, foi realizado na Holanda. Não houve diferenças significativas entre os pacientes que utilizaram fator de crescimento e placebo em relação aos dias de febre, dias de internação, e recuperação das contagens leucocitárias. Dois dados interessantes levantados neste estudo foram um escore de qualidade de vida significativamente melhor no grupo placebo e um custo de hospitalização significativamente mais alto no grupo de pacientes que utilizou GM-CSF (VELLENGA *et al.*, 1996). Outro estudo foi realizado em 1997 na Austrália, desta vez envolvendo o uso de G-CSF na neutropenia febril. Observou-se uma redução significativa no período de internação (2 dias de redução - $P = 0,04$) e no período de uso de antibióticos (1 dia de redução - $P = 0,02$) nos pacientes que utilizaram G-CSF em relação aos que utilizaram placebo. A recuperação nas contagens de neutrófilos também foi significativamente mais rápida no primeiro grupo. Houve uma redução significativa nos custos hospitalares, decorrente do uso deste fator de crescimento (MITCHELL *et al.*, 1997).

2.5 - MOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS PERIFÉRICAS PARA TRANSPLANTE

O uso de quimioterapia de altas doses (mieloablativas) tornou-se um item importante no tratamento do câncer. Seu uso, porém, está associado com pancitopenia severa e mielossupressão, aumentando o risco de morbidade ou mortalidade. O transplante de medula óssea é necessário após regimes de condicionamento mieloablativos para prevenir hipoplasia medular permanente, mas, mesmo com o uso de fatores de crescimento mielóide, a normalização da função da medula óssea pode ser demorada (WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYN, 1996). Além disso, pacientes com dano ao microambiente medular e ao compartimento das células tronco, devido a quimioterapia ou radioterapia, e pacientes com invasão tumoral na medula óssea muitas vezes não têm medula suficiente ou adequada para coleta, visando um transplante autólogo. Outros pacientes não são elegíveis para a anestesia geral ou condutiva, procedimento necessário para a coleta de medula óssea (NEMUNAITIS, 1993). O uso de células tronco periféricas para a reconstituição da função medular iniciou na década de 80 e teve seu uso difundido na década de 90, tornando-se hoje a principal fonte de células tronco para transplante após quimioterapia de altas doses. A recuperação medular, após transplante com células tronco periféricas, é geralmente mais rápida que a obtida com transplante de medula óssea, com menor morbidade e mortalidade e com custo menor (BOOGAERTS e DEMUYNCK, 1996). A coleta dessas células é realizada com relativa facilidade em máquinas de citafereze.

As células tronco hematopoiéticas, capazes de produzir uma prole com capacidade de auto-renovação e diferenciação, circulam em um número limitado no sangue, numa concentração cem vezes menor que a existente na medula óssea. A sua coleta através de máquinas de citafereze é demorada e exige vários procedimentos (uma média de 10 procedimentos de 3 a 4 horas cada). Este método foi o primeiro a

utilizar células tronco periféricas para recompor o sistema hematopoético de pacientes com tumores sólidos e neoplasias hematológicas, submetidos a transplante, porém inelutáveis para coleta de medula óssea (GILLESPIE e HILLYER, 1996).

Um estudo publicado em meados da década de oitenta descreveu um aumento de mais de 100 vezes no número de células tronco periféricas no sangue de pacientes portadores de leucemia mieloide aguda que tinham se submetido, recentemente, a quimioterapia de indução. Estes achados levaram a um esforço para se utilizar quimioterapia (num primeiro momento) e fatores de crescimento para aumentar o número de células tronco coletadas em cada procedimento de citaférese, reduzindo então o número de procedimentos e o volume de células infundidas, com a conseqüente redução no custo (GILLESPIE e HILLYER, 1996). A este procedimento denomina-se de mobilização.

O uso de quimioterapia, com droga única ou com combinação de quimioterápicos, proporciona um aumento de até 15 vezes no número de células tronco circulantes, durante o período de recuperação da aplasia. Embora já se tenha demonstrado que esta abordagem é eficiente como mobilização, também tem seus riscos: prolongados períodos de neutropenia e trombocitopenia. A introdução dos fatores de crescimento hematopoiéticos modificou a abordagem da mobilização, substituindo ou complementando a quimioterapia isolada.

O uso seqüencial de quimioterapia e fatores de crescimento proporciona coletas de células tronco periféricas de maneira mais rápida e funcionalmente mais eficazes que as coletadas com a mobilização feita com quimioterápicos (LIU, AKASHI, HARADA, TAKAMATSU e NIHO, 1993). Os dois fatores de crescimento (G-CSF e GM-CSF) têm sido utilizados com bons resultados. As doses empregadas variam entre 5 e 10 microgramas/kg para o G-CSF (TESHIMA *et al.*, 1993; BRUGGER *et al.*, 1993; SICA *et al.*, 1994; LONG, CHAO, HU, NEGRIN, WONG e BLUME, 1996; WEBB *et al.*, 1996) e

125 a 250 mg/m² ou 5 microgramas/kg para o GM-CSF (BISHOP *et al.*, 1994; GAZITT *et al.*, 1996; GILLESPIE e HYLLIER, 1996).

G-CSF e GM-CSF têm sido utilizados isoladamente (ou em conjunto) para a mobilização de células tronco periféricas sem a necessidade de se esperar um período de recuperação das citopenias, que ocorre quando se usa quimioterapia associada. O uso de G-CSF na dose de 5 a 10 microgramas /kg por 5 dias, seguidos de afereses por 2 a 3 dias, proporciona um número suficiente de células CD 34 positivas (células tronco periféricas) para a realização de transplante (NADEMANEE *et al.*, 1994; FEREMANS *et al.*, 1994; MAHÉ *et al.*, 1996; SOMLO *et al.*, 1997). Em relação ao GM-CSF, doses de 6 a 16 microgramas/kg por 5 a 7 dias, também proporcionam, após a realização de afereses, contagens de CD 34 em número necessário para transplante (PETERS *et al.*, 1993; GILLESPIE e HYLLIER, 1996). Poucos trabalhos compararam a utilização destes dois fatores na mobilização de células progenitoras periféricas. PETERS *et al.*, demonstraram que se obtém número suficiente de células tronco com os dois fatores de crescimento, embora o G-CSF proporcione uma recuperação mais rápida após o transplante (PETERS *et al.*, 1993).

Um único estudo multicêntrico, realizado na Europa, comparou o uso de células tronco periféricas com medula óssea nos transplantes autólogos, ambos com uso de G-CSF no período pós-transplante. O grupo que utilizou células tronco periféricas obteve uma recuperação mais rápida, com um período de neutropenia de 11 dias *versus* 14 dias, e plaquetopenia de 16 dias *versus* 23 dias. O período de internação também foi menor no grupo que recebeu células tronco periféricas e a mortalidade não foi diferente entre os dois grupos (SCHIMITZ *et al.*, 1996). Este estudo reforça a conduta já adotada na prática clínica que prefere atualmente o uso de células tronco periféricas no transplante autólogo.

Uma outra aplicação para a mobilização isolada com fatores de crescimento é a coleta de células tronco para transplante alogênico. As primeiras tentativas foram realizadas em transplantes singênicos, com excelentes resultados (BENSINGER *et al.*, 1996). Nestes transplantes, a existência, no material coletado, de linfócitos T em número maior que o obtido com a coleta de medula óssea não trazia maior preocupação. Entretanto, isto era um risco potencial para o desenvolvimento de doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) no transplante alogênico (LINK, ARSENEV, BÄHRE, KADAR, DIEDRICH e POLIWODA, 1996). Os primeiros estudos em transplante alogênico, porém, não evidenciaram um aumento no risco da DECH aguda quando se utilizavam células CD 34 mobilizadas com fator de crescimento (TANAKA, IMAMURA, ASAKA e KASAI, 1995). Hoje em dia, esta prática vem crescendo em utilização, devendo desbancar a coleta de medula óssea tradicional como fonte de células tronco para transplante alogênico.

2.6 - USO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMOPOIÉTICAS

Diversas evidências provenientes de estudos feitos em animais e em humanos têm demonstrado que o aumento das doses da terapia citotóxica resulta em uma melhor resposta tumoral. Entretanto, a mielotoxicidade desta abordagem requer apoio com células tronco hematopoiéticas alogênicas ou autólogas para restaurar a função medular. Apesar deste apoio, a recuperação medular, representada pela normalização nas contagens de neutrófilos, requer aproximadamente 3 semanas, período em que existe um risco considerável de infecções bacterianas e fúngicas. A trombocitopenia pode persistir por períodos mais longos, requerendo transfusões repetidas (SCARFFE, 1991). A crescente utilização de células tronco hematopoiéticas, obtidas por afereses do sangue periférico, tem resultado em períodos mais curtos de pancitopenia e, nestas

situações, a utilização dos fatores de crescimento é feita antes da coleta e, muitas vezes, após o transplante.

Muitas das promessas e algumas das limitações do uso dos fatores de crescimento na prática clínica foram definidas na âmbito do transplante de medula óssea. Os fatores de crescimento são utilizados para acelerar a recuperação hematológica após o transplante, além de serem utilizados na circunstância infreqüente de não ocorrer pega das células transplantadas (GOLDE, NEIDHART, SCADDEN e NIMER, 1995).

Transplante Autólogo de Medula Óssea

O transplante autólogo de medula óssea tem sido empregado desde meados da década passada no tratamento de uma série de neoplasias. Morbidade e mortalidade no período após o transplante, secundárias ao uso de quimioterapia ou radioterapia mieloablativa, eram altas devido, principalmente, a episódios infecciosos. A duração e a intensidade desta neutropenia correlacionavam-se diretamente à incidência de infecções graves. Assim, a disponibilidade dos fatores de crescimento proporcionou uma nova e promissora abordagem para esta terapia (GRANT e HEEL, 1992).

Os primeiros trabalhos fase I/II utilizando GM-CSF em transplante de medula óssea , realizados no final da década de oitenta e início da década de noventa, mostraram que doses de até 250 microgramas/m² ou 10 microgramas/kg eram bem toleradas e reduziam o período de neutropenia de maneira significativa (quando comparada com controles históricos), além de apresentarem menos dias de febre e terem alta mais precocemente (NEMUNAITIS *et al.*, 1988; BRANDT *et al.*, 1988; O'DAY *et al.*, 1994; CHAMBERS e GARCIA, 1994). Nenhum destes estudos demonstrou redução no período de plaquetopenia. Os ensaios clínicos realizados posteriormente demonstraram redução significativa no período de neutropenia após o transplante. Vários deles também demonstraram redução no período de internação, uso de antibióticos e freqüência de

infecções. Nenhum dos estudos demonstrou redução na mortalidade relacionada a infecções, aumento da resposta tumoral ou sobrevida em relação ao grupo placebo (NEMUNAITIS *et al.*, 1991; GULATI e BENETT, 1992; ADVANI *et al.*, 1992; KHWAJA *et al.*, 1992; RABINOWE *et al.*, 1993).

G-CSF também foi testado no final da década de oitenta como uma alternativa para a recuperação mais precoce do período de neutropenia após transplante autólogo de medula óssea. Os resultados foram semelhantes aos obtidos com o GM-CSF: períodos significativamente mais curtos de neutropenia, menor período de internação e de uso de antibióticos, quando comparado com controles históricos (TABBARA, 1993; WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYN, 1996).

Os resultados observados em ensaios clínicos randomizados realizados posteriormente foram semelhantes aos relatados acima. STAHEL *et al.*, em um ensaio clínico randomizado realizado na Suíça, obtiveram um período significativamente mais curto de neutropenia (10 *versus* 18 dias) e neutropenia febril (5 *versus* 13,5 dias). A redução no período de internação e uso de antibióticos não foi estatisticamente significativa e não houve alteração na taxa de mortalidade (STAHEL *et al.*, 1994). Outro estudo multicêntrico, realizado na Europa em pacientes submetidos a transplante autólogo ou alogênico, produziu resultados semelhantes (GISSELBRECHT *et al.*, 1994).

Transplante de Células Tronco Periféricas

Uma vez estabelecido que células tronco hematopoiéticas coletadas do sangue poderiam reconstituir a hemopoiese de maneira duradoura, iniciaram-se os trabalhos para avaliar se haveria benefício no uso de fatores de crescimento após o transplante.

Um estudo randomizado comparando o uso associado de G-CSF e GM-CSF nas doses de 7,5 microgramas/kg e 2,5 microgramas/kg, respectivamente, mostrou um

período de neutropenia abaixo de 500 neutrófilos por mm^3 significativamente mais curto com o uso de fatores de crescimento em relação ao placebo (10 dias *versus* 16 dias). A duração do período de internação também foi um pouco mais curta (19 *versus* 21 dias) para o grupo que utilizou fator de crescimento. Não houve diferença nos dias de febre e no número de transfusões bem como na mortalidade (SPITZER *et al.*, 1994). A combinação de G-CSF e eritropoietina foi testada em um estudo experimental não randomizado. Obteve-se um período mais curto de neutropenia, plaquetopenia, internação hospitalar, dias de febre e de dias de antibióticos (PIERELLI *et al.*, 1996). GORDON, SPADINGER, HODGES, RUBY, STANLEY e COCCIA demonstraram que o uso de GM-CSF, após transplante de células tronco periféricas, reduz o período de mucosite após o condicionamento, sem afetar, no entanto, a sua severidade. O período de neutropenia foi também significativamente mais curto (GORDON, SPADINGER, HODGES, RUBY, STANLEY e COCCIA 1994).

Testou-se também se o uso de fatores de crescimento poderia ser retardado após o transplante de células tronco periféricas. O uso de G-CSF, no primeiro ou no sexto dia após o transplante, não modificou o período de recuperação hematológica, dias de febre, dias de uso de antibióticos e de internação hospitalar. Desta maneira, possibilitou um custo menor (menos dias de uso de fator de crescimento) com resultados semelhantes (FAUCHER *et al.*, 1995).

Transplante Alogênico de Medula Óssea

G-CSF e o GM-CSF têm sido utilizados em diversos estudos após transplante alogênico. Além da avaliação da recuperação hematológica, existe a preocupação em avaliar a taxa de incidência e severidade da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH). Em um estudo com controles históricos realizado na Itália, envolvendo o uso de G-CSF no transplante alogênico em crianças, obtiveram-se períodos de neutropenia, dias de febre e dias de antibióticos parenterais menores em relação ao grupo controle.

Não houve diferenças na incidência de DECH, taxa de recidiva e sobrevida em 100 dias (LOCATELLI *et al.*, 1996). Dois estudos randomizados controlados contra placebo foram realizados com o GM-CSF; no primeiro, realizado em pacientes portadores de leucemia, não se observou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos no que diz respeito a dias de neutropenia, incidência de DECH, duração da hospitalização e sobrevida global (POWLES *et al.*, 1990). Em outro estudo, multicêntrico, envolvendo o transplante de medula depletada de células T, foram observados um período de neutropenia e uma incidência de pneumonias significativamente menor no grupo tratado com GM-CSF em relação ao grupo placebo. Também foi vista uma tendência a menos recidivas e maior sobrevida no grupo que utilizou GM-CSF (DE WITTE *et al.*, 1992).

O uso de fatores de crescimento também tem sido tentado nos casos de demora na recuperação hematológica após transplante alogênico. Os ensaios envolvendo GM-CSF são de difícil interpretação pela utilização de controles históricos e incertezas relacionadas à recuperação espontânea dos neutrófilos. Entretanto, há um benefício potencial e não existem evidências de efeitos deletérios (AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, 1994).

2.7 - OUTROS USOS DOS FATORES DE CRESCIMENTO

Aplasia de Medula

A anemia aplásica é uma patologia hematológica não neoplásica caracterizada por hipocelularidade na medula óssea, diminuição dos progenitores hematopoiéticos e pancitopenia. O uso de fatores de crescimento da linhagem mielóide tem sido tentado, nesta situação, com a intenção de aumentar as contagens de neutrófilos, com resultados variáveis. Em dois estudos, o G-CSF, utilizado em doses altas, mostrou um

aumento significativo somente no número de neutrófilos, efeito este que desaparece quando se suspende a droga (KOJIMA e MATSUYAMA, 1994; LIESCHKE e BURGESS, 1992). Outro grupo japonês descreveu resposta nas três linhagens hematopoiéticas em alguns pacientes (16% dos pacientes), sustentada enquanto se utiliza o G-CSF (IMASHUKU *et al.*, 1994). Em relação ao GM-CSF, alguns estudos também demonstram aumento nas contagens de neutrófilos, o que, aparentemente, reduz o número de infecções graves. Aumento nos monócitos e eosinófilos, bem como nos reticulócitos, também foi observado em alguns pacientes. Não ocorreu, porém, redução nas necessidades de transfusões (LIESCHKE e BURGESS, 1992; SCARFFE, 1991; VADHAN-RAJ, BROXHEIMER e HITTELMAN, 1992). Um estudo interessante foi desenvolvido por um grupo italiano. A combinação de ciclosporina, linfoglobulina e G-CSF foi empregada em 9 pacientes portadores de anemia aplásica severa. Após um mês de uso, foram realizadas citafereses, obtendo-se células CD34 em quantidade suficiente para a realização de transplante autólogo células de progenitoras periféricas (BACIGALUPO *et al.*, 1993).

Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)

Uma falência hematológica primária, combinada com a mielotoxicidade de algumas medicações antivirais e antiparasitárias, muitas vezes complica o tratamento dos pacientes portadores da SIDA. O uso de G-CSF e GM-CSF tem sido tentado para superar algumas destas alterações. O uso de G-CSF, em conjunto com zidovudina (AZT), possibilita a administração deste último em doses plenas, superando a neutropenia que apresentam alguns pacientes (MUELLER, JACOBSEN, BUTLER, HUSSON, LEWIS e PIZZO, 1992; LEVI e KATZ, 1992). Também se tem utilizado o G-CSF associado ao ganciclovir, na tentativa de reverter a neutropenia decorrente deste último (FRAMPTON, LEE e FAULDS, 1994). As doses administradas variam de estudo para estudo, porém obtiveram-se respostas adequadas mesmo com doses consideradas baixas (até 5 microg/kg/semana). Não foi observada nenhuma alteração na carga viral dos pacientes. O uso de

GM-CSF, mesmo em baixas doses, também reverte a neutropenia causada pelo AZT, possibilitando a administração deste último em doses plenas (LEVINE *et al.*, 1991; MANFREDI, CARIANI, LATINI e CHIODO, 1995). O GM-CSF também foi utilizado para reverter a neutropenia causada pelo ganciclovir, com resultados semelhantes ao G-CSF (SCARFFE, 1991). Uma preocupação em relação ao uso do GM-CSF, nos pacientes com SIDA, é o seu efeito de estimular, *in vitro*, a proliferação do HIV (SCADDEN, 1992). Os resultados *in vivo*, porém, são conflitantes e, aparentemente, este efeito é contrabalançado pela maior atividade do AZT proporcionada também pelo GM-CSF (SCARFFE, 1991, GRANT e HEEL, 1992). Não existem evidências de que o uso de G- ou GM-CSF altere as taxas de mortalidade nestes pacientes.

Mielodisplasia

A mielodisplasia, ou síndrome mielodisplásica, é um grupo de doenças da medula óssea caracterizado por uma hemopoiese ineficaz e por alterações qualitativas e quantitativas nas séries granulocítica, eritróide e megacariocítica (SCHULTZ, GELLER e HILLYER, 1995). Estudos não randomizados realizados com G-CSF e GM-CSF demonstram elevação nas contagens de neutrófilos durante o uso destes fatores de crescimento, efeito este que desaparece quando estas medicações são descontinuadas (YOSHIDA, HIRASHIMA, ASANO e TAKAKU, 1991; ROSE *et al.*, 1994). Um ensaio clínico com filgrastima, realizado com pacientes portadores de anemia refratária com excesso de blastos e em transformação, não demonstrou benefícios clínicos significativos, embora não tenha ocorrido evidência de estimulação dos blastos (WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYN, 1996). O uso associado de G-CSF e eritropoietina, aparentemente, apresenta sinergismo, com respostas adequadas na linhagem eritróide e mielóide em um número apreciável de pacientes, requerendo, porém, uso continuado das duas medicações (NEGRIN *et al.*, 1996). O uso associado de G-CSF com eritropoietina (mais metilprednisolona em altas doses) e com ácido transretinóico proporcionou

aumento das contagens das três linhagem hematopoiéticas em um pequeno número de pacientes (IMAI, FUKUOKA, NAKATANI, OHSAKA e TAKAHASHI, 1996; GANSER, 1994). Existe um relato de caso de aumento nas três linhagens hematopoiéticas com o uso isolado de G-CSF em um paciente com anemia refratária com excesso de blastos em transformação (CHIBA, INAMORI, MITAMI, HIRAU e YAZAKI, 1994). Uma abordagem, tentada pelo grupo alemão, foi a associação entre citarabina e GM-CSF para o tratamento de mielodisplasia (anemia refratária com excesso de blastos, ou em transformação, e leucemia mielomonocítica crônica). Obteve-se uma melhora significativa nas contagens de neutrófilos, embora alguns pacientes com leucemia mielomonocíticas crônicas tenham apresentado aumento no número de blastos. A resposta final, quando comparada com o uso isolado de citarabina, foi semelhante, e esta abordagem foi abandonada (GRANT e HEEL, 1992).

Neutropenia Severa Crônica

É uma situação onde a neutropenia está presente desde o nascimento, geralmente acompanhada por quadros freqüentes e severos de infecção. Os fatores de crescimento da linhagem mielóide têm apresentado resultados interessantes no seu tratamento. Um estudo randomizado, envolvendo o uso de G-CSF, demonstrou aumento nas contagens dos neutrófilos e uma redução significativa no número e duração das infecções. Estes efeitos persistem enquanto se utiliza a medicação (DALE *et al.*, 1993). O uso de GM-CSF não mostrou resultados tão convincentes, ocorrendo apenas um pequeno aumento nas contagens de neutrófilos, aparentemente sem maiores repercussões clínicas (SCHMITZ, FRANKE, LOEFFLER, WICHMANN e DIEHL, 1996; NEMUNAITIS, 1993).

Existem relatos de transformação de quadros de neutropenia severa crônica em leucemias. Isto, porém, está associado exclusivamente a situações onde o receptor para o G-CSF sofreu mutação, o que perfaz uma pequena parcela destes pacientes

(DONG, BRYNES, TIDOW, WELTE, LÖWENBERG e TOUW, 1995; WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYN, 1996).

Sepsis Neonatal

Neutropenia é um achado que freqüentemente acompanha os quadros de sepse neonatal e que aumenta sensivelmente a mortalidade nestas situações. O G-CSF, quando utilizado nestas situações, eleva a contagem de neutrófilos na periferia e de progenitores granulocíticos na medula óssea. Alguns pacientes apresentaram, simultaneamente, uma queda nas contagens de plaquetas. Nenhum dos estudos, inclusive um ensaio clínico randomizado, demonstrou melhora na condição clínica dos pacientes (GILLAN, CHRISTENSEN, SUEN, ELLIS, VAN DE VEM, CAIRO, 1994; RUSSELL, DAVIES, BALL e GORDON-SMITH, 1995; ROSENTHAL, HEALEY, ELLIS, GILLAN e CAIRO, 1996).

Agranulocitose

É uma situação onde ocorre uma leucopenia às custas, basicamente, de redução nas contagens dos granulócitos (principalmente neutrófilos). Está associada, geralmente, com exposição a drogas. A incidência de infecções, nestes casos, esta aumentada (YOUNG, 1994). O uso de G-CSF, nestas situações, acelera a recuperação das contagens de neutrófilos em pacientes com agranulocitose induzida por clozapina, captopril, propiltiouracil, mesalazina, sulfasalazina e alguns antibióticos (RUIZ-IRASTORZA, ALONSO, IGLESIAS e AGUIRRE, 1994; FRAMPTON, LEE e FAULDS, 1994; FUJIWAKI, HATA, HATA, KITAO, FURUYA e KATOH, 1995). A maioria das situações descritas são relatos de caso onde fica difícil avaliar se a recuperação não ocorreria de maneira semelhante sem o uso dos fatores de crescimento.

Artrite reumatóide (fazendo parte de síndrome de Felty) e lúpus eritematoso sistêmico estão associados a quadros de neutropenia e conseqüente aumento no risco de infecções. Em ambas situações, o G-CSF já foi empregado, resultando em aumento

nas contagens de neutrófilos e em resolução dos quadros infecciosos. O efeito da medicação dura enquanto ela é administrada (CHOI, MANT, TURNER, AKABUTU e AARON, 1994; EULER, SCHWAB e SCHROEDER, 1994). G-CSF associado a ciclosporina foi utilizado em dois casos de síndrome hemofagocítica associada a vírus com bons resultados (TSUDA e SHIRONO, 1996).

Outras Situações

Os fatores de crescimento têm sido utilizados em outras situações clínicas. No transplante hepático, o G-CSF foi utilizado para reduzir a incidência de sepse, de rejeição aguda e da mortalidade. Todos estes objetivos foram alcançados, quando comparados com uma série histórica de pacientes (FOSTER *et al.*, 1995). Deve-se ressaltar que este estudo foi considerado, pelos próprios autores, como um estudo piloto, devendo servir de base para futuros estudos com amostras maiores e desenho mais consistente. Uma pequena série de pacientes submetidos a transplante renal utilizou G-CSF para reduzir a leucopenia apresentada por estes pacientes, o que foi atingido no estudo. Outro, envolvendo o GM-CSF, também demonstrou resolução de neutropenia após transplante renal em uma série de pacientes. A repercussão clínica da resolução da neutropenia nos dois estudos, no entanto, não foi comentada (TAJIMA *et al.*, 1991; PAGE, MORIN, MAMZER, THERVET e LEGRENDE, 1994). O G-CSF foi utilizado como adjuvante no tratamento de pacientes com pneumonia comunitária que necessitaram hospitalização, em um ensaio clínico randomizado. Foi demonstrada uma redução na taxa de complicações (choque séptico, empiema, falência de múltiplos órgãos), assim como na resolução dos achados radiológicos (WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYN, 1996). Um relato interessante envolveu o GM-CSF no tratamento de úlceras crônicas dos membros inferiores, com resolução completa nos três pacientes testados (COSTA, ANICETO, JESUS e MENDES, 1994).

2.8 - EFEITOS ADVERSOS DO USO DE FATORES DE CRESCIMENTO

O uso dos fatores de crescimento é geralmente bem tolerado e os efeitos adversos mais freqüentes são facilmente manejáveis.

A reação mais freqüente ao uso do G-CSF é o aparecimento de dores ósseas de intensidade leve a moderada. Este efeito ocorre em, aproximadamente, 10 a 20% dos pacientes e é tratado com analgésicos do tipo paracetamol. Este sintoma geralmente desaparece com a continuidade do uso (WELTE, GABRILOVE, BRONCHUD, PLATZER e MORSTYN, 1996; FRAMPTON, LEE e FAULDS, 1994). Algumas alterações em exames laboratoriais também podem ocorrer, como aumento nos níveis de fosfatase alcalina, fosfatase alcalina leucocitária, ácido úrico e desidrogenase láctica e redução nos níveis de colesterol total (LIESCHKE e BURGESS, 1992; FRAMPTON, LEE e FAULDS, 1994). Estas alterações, quando ocorrem, persistem durante todo o tratamento. Dor, edema ou vermelhidão no local da sua injeção são raramente observados. Nos pacientes com neutropenia crônica severa, a esplenomegalia assintomática foi encontrada em 25% dos casos. Esta alteração geralmente aparece precocemente, após o início do tratamento com G-CSF, e tende a desaparecer com a continuidade do uso (WELTE *et al.*, 1996). Reações do tipo anafilaxia e *capillary leak syndrome* são extremamente raras (FRAMPTON, LEE e FAULDS, 1994). Dermatose neutrofílica febril aguda (síndrome de *Sweet*) já foi descrita em alguns pacientes e caracteriza-se por febre, neutrofilia, placas cutâneas eritematosas dolorosas e assimétricas, infiltração por neutrófilos maduros na biópsia e rápida resolução após o uso de corticóides. Outras alterações de pele já foram descritas, também de forma infreqüente, como vasculites, pioderma gangrenoso e piora da psoríase (PAYDAS *et al.*, 1993). Um provável aumento no risco de fibrose pulmonar, nos pacientes que utilizam simultaneamente G-CSF e bleomicina, foi descrito em relato de caso, não sendo, porém, confirmado em ensaios clínicos (BASTION *et al.*, 1994).

O uso de G-CSF em voluntários sadios foi associado, a curto prazo, apenas a dores músculo-esqueléticas (BESSINGER *et al.*, 1993). Não foram encontradas alterações significativas na medula óssea após 5 anos do seu uso (SAKAMAKI, MATSUNAGA, HIRAYAMA, KUGA e NIITSU, 1995).

GM-CSF também é bem tolerado no seu uso clínico corriqueiro. Novamente as dores ósseas figuram como o efeito adverso mais freqüentemente encontrado. Outros efeitos relativamente comuns são letargia, mialgias, anorexia e aumento no peso (LIESCHKE e BURGESS, 1992). Febre de pequena intensidade (até 38°C) é comum e responde a antitérmicos do tipo paracetamol ou ibuprofeno. O fato do uso do GM-CSF estar ligado a neutropenia, muitas vezes acompanhada de febre, pode introduzir um dilema no manejo destes pacientes, já que a febre é um importante sinal de sepse nesta situação (GRANT e HEEL, 1992). Assim como o G-CSF, também o GM-CSF está associado a alterações em exames laboratoriais, como aumento nos níveis de desidrogenase láctica, fosfatase alcalina e transaminases e redução nos níveis de colesterol total e albumina (LIESCHKE e BURGESS, 1992). Dor e eritema no local de infusão podem ocorrer em até 10% dos pacientes, quando usado por via subcutânea. Flebite e, quando utilizado em doses altas, trombose de cateter venoso central podem ocorrer quando seu uso é feito por via endovenosa (STEWART, 1993; GRANT e HEEL, 1992). A primeira dose de GM-CSF por via endovenosa pode estar associada a um quadro de eritema, taquicardia, hipotensão, dispnéia, náuseas, vômitos e hipoxemia. Este quadro desaparece com o uso de oxigênio e fluidos endovenosos (STEWART, 1993). Doses elevadas (acima de 20 microgramas/kg) estão associadas a retenção hídrica, derrame pericárdico e pleural e trombose venosa – *capillary leak syndrome* (LIESCHKE e BURGESS, 1992). Reações cutâneas também são relativamente freqüentes com o uso do GM-CSF. As mais comuns são lesões eritematosas planas no local de injeção subcutânea (cuja biópsia revela um infiltrado perivascular linfocitário) e lesões máculo-papulosas eritematosas que ocorrem após o uso endovenoso (GRANT e HEEL 1992). Existem ainda relatos de epi-

dermólise bolhosa e vasculite associados ao uso de GM-CSF (PAYDAS *et al.*, 1993). Reações do tipo anafilaxia, embora já descritas, são raras. Os efeitos adversos apresentados em crianças são semelhantes aos encontrados nos adultos. Existem relatos de reativação de doenças auto-imunes precipitadas pelo uso de GM-CSF (tireoidite auto-imune, artrite reumatóide, púrpura trombocitopênica imunológica e hemólise) (NATHAN e BESA, 1992, LIESCHKE e BURGESS, 1992). Em pacientes com SIDA, existe relato de estimulação no crescimento de sarcoma de kaposi após exposição ao GM-CSF (HERMANS, GORI, LEMONE, FRANCHIOLY e CLUMECK, 1994).

O fato dos fatores de crescimento mostrarem, *in vitro*, a capacidade de estimularem células leucêmicas sempre traz a preocupação deste fenômeno ocorrer *in vivo*. Os fatores de crescimento têm um papel vital na regulação da hematopoiese normal, interferindo na apoptose. Este fato parece proteger as células progenitoras após exposição a quimioterapia ou radioterapia, reduzindo assim a mielossupressão. Por outro lado, a interferência na apoptose também pode gerar a sobrevivência de células com material genético danificado, que é um mecanismo importante na oncogênese. Assim, o uso associado dos fatores de crescimento com quimioterapia mielotóxica, poderia induzir o aparecimento de alterações genéticas com potencial de transformação maligna. Observa-se, na literatura, alguns relatos de aumento na freqüência de leucemias secundárias e de mielodisplasias, associadas ao uso de fatores de crescimento (especialmente o G-CSF), com ou sem quimioterapia (BRODSKY, BEDI e JONES, 1996; KOJIMA, TSUCHIDA e MATSUYAMA, 1992). Esta associação, porém, não encontra consenso na literatura (IMASHUKU *et al.*, 1994). Somente com o acompanhamento, por longo período, dos ensaios clínicos já realizados poder-se-á ter a resposta definitiva para esta questão.

3 – JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO

3 – JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO

O papel dos fatores de crescimento, no tratamento médico atual, ainda está se consolidando. Algumas aplicações, como o seu uso para a mobilização de células progenitoras periféricas já estão consagradas. O mesmo não se pode afirmar em relação ao seu uso nas leucemias agudas, onde os resultados dos estudos não são uníssonos. Além disto, boa parte das informações comentadas provém de ensaios clínicos randomizados ou de séries de casos com controles históricos. Parece cabível, portanto, avaliar o efeito destes fármacos em condições reais de emprego clínico.

Pouco se sabe sobre os resultados dos tratamentos de leucemias agudas, recaídas ou refratárias, em nosso país, e menos ainda se sabe sobre as complicações que advêm deste tratamento. A disponibilidade dos fatores de crescimento, em nosso meio, provocou a sua imediata incorporação ao tratamento destes pacientes sem o devido questionamento. Será que existe benefício real na sua utilização? A taxa de óbito, no período de aplasia após a quimioterapia, é reduzida? Conseguimos reduzir a taxa de infecção?

Das informações atualmente disponíveis e sumarizadas acima, e do questionamento natural frente à disponibilidade de uma nova classe de medicação, vimos que a prescrição racional dos fatores de crescimento no nosso meio ainda carecia de um maior embasamento. A iniciativa deste estudo foi, pois, uma tentativa de aumentar o substrato teórico para esta tomada de decisão.

4 - OBJETIVOS

4 - OBJETIVOS

Principal

- Avaliar o efeito de fatores de crescimento hematopoiéticos (G-CSF e GM-CSF) sobre a mortalidade hospitalar de pacientes com LLA ou LMA, recaídos ou refratários, submetidos a quimioterapia de altas doses.

Secundários

- Avaliar o impacto do uso de fatores de crescimento nos gastos com antibióticos;
- Observar o grau de redução nos períodos de neutropenia, de febre e de internação;
- Avaliar a taxa de remissão completa;
- Determinar a incidência de infecções.

5 - MATERIAIS E MÉTODOS

5 - MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 – DELINEAMENTO

Estudo quase-experimental com controles históricos e contemporâneos.

5.2 – PACIENTES

Critérios de Inclusão

- Pacientes com leucemia aguda mielóide, linfóide ou bifenotípica e portadores de leucemia crônica mielóide em crise blástica.
- Recaídos (em medula óssea) ou refratários a quimioterapia (QT) em doses usuais.
- Submetidos a quimioterapia de altas doses (definida como a QT capaz de produzir neutropenia severa – abaixo de 500 neutrófilos /mm³ – em todos os pacientes por pelo menos 7 dias).
- Tratados no Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de janeiro de 1992 a maio de 1995.

Critérios de Exclusão

- Contra-indicação para a realização de quimioterapia de altas doses.
-

- Dados insuficientes no prontuário para a correta avaliação dos parâmetros a serem medidos.
- Óbito ocorrido antes do término da quimioterapia.

5.3 - FATORES DE CRESCIMENTO

- Foram utilizados o G-CSF na dose diária de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IV, em infusão de 1 hora, até a dose de 300 microgramas (uma ampola) ou GM-CSF também na dose de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IV, em infusão de 1 hora, até um máximo de 400 microgramas (uma ampola), iniciados até 72 horas depois do término da quimioterapia.
- As medicações foram utilizadas até se obter uma contagem de neutrófilos de, no mínimo, 500 / mm^3 , sustentada por 3 dias.

5.4 - CRITÉRIOS DE ALOCAÇÃO DO TRATAMENTO

Os fatores de crescimento foram utilizados a partir de maio de 1993, quando se tornaram disponíveis para uso no mercado nacional. O grupo controle constituiu-se por pacientes que preencheram o critério de inclusão, no período de janeiro de 1992 a maio de 1993 (período onde os fatores de crescimento não eram disponíveis). Também foram incluídos, como controles, os que preencheram o critério de inclusão entre maio de 1993 e janeiro de 1994 que, por decisão do médico assistente ou da comissão de medicamentos, não utilizaram fatores de crescimento. A partir de fevereiro de 1994, todos os pacientes submetidos a altas doses utilizaram, em algum momento, fatores de

crescimento. Foram excluídos do estudo aqueles que utilizaram fatores de crescimento com início após 72 horas do término da quimioterapia.

5.5 - DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS EM ESTUDO

Váriáveis Descritivas da População em Estudo

- Sexo.
- Idade – no momento do término da quimioterapia.
- Diagnóstico hematológico – enquadrado dentro de quatro categorias: Leucemia Mielóide Aguda, Leucemia Linfóide Aguda, Leucemia Bifenotípica e Leucemia Mielóide Crônica em crise blástica.
- Quimioterapia utilizada.
- Número de recidivas prévias – foi considerado o número de recidivas que o paciente apresentou antes da análise em curso, divididas em duas categorias: primeira recidiva ou segunda recidiva.
- Neutropenia prévia – dias de neutropenia antes e durante a quimioterapia (número absoluto abaixo de $500/\text{mm}^3$).

Váriáveis Pertinentes à Análise

- Remissão – obtenção de remissão após a recuperação da neutropenia, avaliada através de medulograma (presença de menos de 5% de blastos). A presença de blastos no sangue periférico em mais de dois hemogramas consecutivos, sem recuperação das contagens hematológicas (persistência de anemia, plaquetopenia e neutrope-

nia), era considerada não entrada em remissão. Os óbitos também foram considerados como não remissão.

- Óbito no período de internação.
- Causa do óbito.
- Dias de internação – contados a partir do término da quimioterapia até o momento da alta ou do óbito.
- Dias de febre – definida como um pico diário de febre acima de 38,5 °C, ou 2 picos diários de febre acima de 38 °C, não relacionados à transfusão de hemoderivados, e contados a partir do término da quimioterapia. No caso de dias não consecutivos, foi considerado o período até o último dia de febre que preencheu os critérios já descritos.
- Dias de neutropenia – definida como a contagem absoluta de neutrófilos abaixo de $500/\text{mm}^3$, contados a partir do término da quimioterapia até o momento do óbito ou até o último dia com contagens abaixo do nível descrito.
- Dias de plaquetopenia – definida como contagem abaixo de $20.000/\text{mm}^3$ e contada a partir do término da quimioterapia até o óbito ou até o último dia com contagens abaixo do nível descrito.
- Infecções caracterizadas por sítio ou etiologia:
 - bacteremia / sepse;
 - pneumonia bacteriana ou atípica (esta última demonstrada por infiltrado pulmonar difuso acompanhado de hipoxemia ou diagnóstico de pneumocistose);
 - sinusite;
 - diarreia;
 - infecção do trato urinário alto ou baixo;

- infecção em pele ou subcutâneo (excluindo as relacionadas diretamente com cateter semi- ou totalmente implantável), incluindo infecções por herpes simplex ou herpes zooster;

- infecção relacionada a cateter semi- ou totalmente implantável (incluindo celulite na área de inserção do cateter);

- infecção fúngica documentada clínica ou microbiologicamente;

- tiflíte;

- febre sem foco ou germe identificados;

- outras infecções não enquadradas nos itens anteriores;

- Germes isolados em culturais.

- Antimicrobianos utilizados durante o período de internação com o respectivo tempo de uso (em dias). Não foram incluídos, na análise, os antimicrobianos utilizados profilaticamente (nistatina, norfloxacin, cotrimoxazol em dose profilática)

- ceftazidima;

- amicacina;

- vancomicina;

- anfotericina B;

- imipenem;

- pefloxacin;

- cotrimoxazol (em dose para tratamento de pneumocistose);

- outros antimicrobianos;

- Gasto total com os antibióticos acima (calculado a partir dos dias de uso, da dose usual para um adulto de 70 kg com função renal normal e do preço médio de venda do antibimicrobiano pela tabela Brasíndice).

- Uso dos fatores de crescimento.

- Dias de uso dos fatores de crescimento.

- Fator de crescimento utilizado.
- Gasto com fator de crescimento (calculado a partir dos dias de uso, na dose de 300 μ g, para a filgrastima, ou na dose usual para um adulto de 70 kg, para a molgramostina, e o preço médio de venda do fator de crescimento pela tabela Brasileira).
- Gasto total com antimicrobianos e fator de crescimento.

5.6 - COLETA DE DADOS

Os dados dos pacientes selecionados para o estudo foram coletados mediante revisão de prontuários.

A coleta foi realizada pelo próprio autor, auxiliado por médica-residente do Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e por um acadêmico da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, treinados pelo autor para a adequada obtenção das informações.

5.7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Procedeu-se à tabulação dos dados em planilha Microsoft Excel. A consistência dos dados foi confirmada pela revisão visual em duas ocasiões e pela detecção de valores extremos ou incongruentes na análise descritiva.

A análise de frequência das variáveis de interesse e da associação entre elas foi feita no programa estatístico SPSS. O teste exato de Fischer e o do Qui-quadrado

foram empregados na comparação de frequências. O teste T de Student, para amostras independentes, foi empregado para a comparação de médias dos demais parâmetros.

Modelos de regressão logística foram empregados para controlar o efeito de potenciais fatores de confusão sobre as associações de interesse. As variáveis dependentes foram óbito e ausência de remissão (não-remissão ou óbito). O tratamento com fatores de crescimento constituiu-se na variável em estudo. As co-variáveis foram selecionadas de acordo com os pressupostos teóricos e com sua distribuição na análise bivariada. Foram elas: idade, quimioterapia utilizada (ciclofosfamida e etoposido *versus* as demais) e diagnóstico hematológico (LMA *versus* LLA).

Os níveis de significância estão especificados com os resultados. Sua interpretação deve levar em conta a coerência teórica e a tendência global das associações, pois as probabilidades não foram corrigidas para múltiplas comparações.

5.8 - TAMANHO AMOSTRAL

Não se procedeu a um cálculo de tamanho de amostra *a priori*, pois foram estudados todos os pacientes possíveis no período de observação.

5.9 - ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo, por se tratar de revisão de prontuários, é considerado como do grupo I (sem risco), de acordo com as Normas de pesquisa em Saúde (CNS, 1988). O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (parecer número 97096).

6 - RESULTADOS

6 - RESULTADOS

De um total de 70 pacientes inicialmente avaliados, 50 foram selecionados. Os pacientes excluídos o foram pelas seguintes razões:

- 1 - Quimioterapia em doses intermediárias: 6 pacientes
- 2 - Recaída em sistema nervoso central isolada: 6 pacientes
- 3 - Administração tardia do fator de crescimento: 3 pacientes
- 4 - Óbito durante o período de quimioterapia: 2 pacientes
- 5 - Dados insuficientes no prontuário: 2 pacientes
- 6 - Leucemia mielóide crônica juvenil: 1 paciente

A tabela 8 mostra as principais características do grupo estudado. Predominaram os pacientes do sexo masculino (60% da amostra) e com o diagnóstico de Leucemia Linfóide Aguda (62% dos casos).

TABELA 8 - CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES ESTUDADOS (FREQUÊNCIA E PERCENTAGEM OU MÉDIA E DESVIO PADRÃO, QUANDO CABÍVEIS)

SEXO	masculino	30 (60%)
	feminino	20 (40%)
IDADE	média:	17,7 anos (11,4 anos)
	idade mínima:	3 anos
	idade máxima:	53 anos
DIAGNÓSTICOS	LLA	31 (62%)
	LMA	17 (34%)
	leucemia bifenotípica	1 (2%)
	LMC CB	1 (2%)

A tabela 9 mostra todos os esquemas quimioterápicos de altas doses utilizados. Predominou, em 52% dos casos, o esquema citarabina e etoposida.

TABELA 9 - QUIMIOTERAPIAS REALIZADAS

QUIMIOTERÁPICOS UTILIZADOS	NÚMERO DE PACIENTES (percentagem)
Citarabina + etoposido	26 (52%)
Ciclofosfamida + etoposido	11 (22%)
Citarabina + antraciclina	4 (8%)
Citarabina + ciclofosfamida + etoposido	3 (6%)
Citarabina + asparaginase	2 (4%)
Citarabina + dexametasona	2 (4%)
Citarabina + carboplatina	1 (2%)
Citarabina	1 (2%)

Do total de pacientes analisados, 26 (52%) utilizaram fator de crescimento. Destes, 22 utilizaram o G-CSF (filgrastima) e 4 utilizaram o GM-CSF (molgramostina). Os 24 pacientes restantes (48%) não utilizaram fator de crescimento.

A tabela 10 demonstra as principais características dos dois grupos estudados. Não foram observadas diferenças significativas na distribuição por sexo, na idade, na distribuição por patologias, no número de recidivas e nos dias de neutropenia prévios ao final da quimioterapia. A distribuição por quimioterapia realizada também foi semelhante entre os dois grupos estudados, embora o esquema ciclofosfamida e etoposida tenha sido utilizado com mais frequência nos pacientes que utilizaram fatores de crescimento (3 pacientes no grupo controle *versus* 8 pacientes no grupo fator de crescimento).

TABELA 10 - COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS TRATADOS COM E SEM FATORES DE CRESCIMENTO (FREQUÊNCIA E PERCENTAGEM OU MÉDIA E DESVIO PADRÃO, QUANDO APLICÁVEIS)

	GRUPO CONTROLE (n = 24)	GRUPO FATOR CRESCIMENTO (n = 26)	P
SEXO MASCULINO	14 (58%)	16 (61,5%)	0,954
IDADE (anos)	17,3 (11,4)	18,1 (11,52)	0,810
DIAGNÓSTICO			
- LLA	13 (54%)	18 (69%)	0,413
- LMA	10 (41,5%)	7 (27%)	
- LMC CB		1 (4%)	
- L. Bifenotípica	1 (4,5%)		
QUIMIOTERAPIA UTILIZADA			
- citarabina+ etoposido	14 (58%)	12 (46,5%)	0,297
- ciclofosfamida+ etoposido	3 (12,5%)	8 (30,5%)	
- outras	7 (29,5%)	6 (23%)	
NÚMERO DE RECIDIVAS			
- primeira	16 (71%)	18 (69%)	0,9
- segunda	8 (29%)	8 (31%)	
DIAS DE NEUTROPENIA PRÉVIOS			
- média	4,0 (5,15)	3,8 (5,13)	0,9
- desvio padrão			

A taxa de óbito hospitalar nos pacientes estudados foi de 22%. Os óbitos ocorreram em número maior nos pacientes que utilizaram fator de crescimento. Foram 8 óbitos neste grupo contra 3 no grupo que não utilizou. A diferença entre os grupos não alcançou significância estatística ($P = 0,12$). Em relação às causas de óbito, houve duas mortes por infecção e uma por sangramento nos pacientes que não utilizaram fator de crescimento, e seis mortes por infecção e duas por sangramento entre os que utilizaram. A taxa de remissão foi de 34%. As remissões, após o tratamento quimioterápico, ocorreram com frequência maior no grupo que não recebeu fator de crescimento. Dos 24 pacientes do grupo controle, 11 obtiveram remissão (45,8%) enquanto que no grupo fator de crescimento, 6 dos 26 pacientes obtiveram remissão (23%), diferença esta que não obteve significância estatística ($P = 0,09$). Os dados estão resumidos na tabela 11.

TABELA 11 - COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS – REMISSÕES E ÓBITOS (FREQUÊNCIA E PERCENTAGEM OU MÉDIA E DESVIO PADRÃO, QUANDO APLICÁVEIS)

	TOTAL	GRUPO CONTROLE	GRUPO FATOR DE CRESCIMENTO	P
ÓBITOS	11 (22%)	3 (12,5%)	8 (30,5%)	0,12
CAUSAS DE ÓBITO				
- infecção	8 (16%)	2 (8%)	6 (23%)	
- sangramento	3 (6%)	1 (4%)	2 (7,5%)	
REMISSÃO	17 (34%)	11 (46%)	6 (23%)	0,09

Não houve diferença na incidência global de infecções e infecções por sítio entre os tratados com e os tratados sem fatores de crescimento. A distribuição absoluta de eventos, diversa em uma ou outra condição, não abriga qualquer tendência sistemática, pois às vezes privilegia os tratados com, e outras vezes os tratados sem os fatores de crescimento. A incidência de episódios infecciosos está demonstrada abaixo na tabela 12.

TABELA 12 - COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS – INFECÇÕES (FREQUÊNCIA E PERCENTAGEM)

	GRUPO CONTROLE	GRUPO FATOR DE CRESCIMENTO	P
Pneumonia	11 (45,8%)	9 (34%)	0,42*
Sepse	8 (33,3%)	12 (46%)	0,36*
Sinusite	2 (8,3%)	2 (8%)	0,68**
Diarréia	4 (16,7%)	4 (15%)	0,60**
Infecção urinária	5 (20%)	2 (7,7%)	0,18**
Infecção pele e subcutâneo	3 (12,5%)	3 (11,5%)	0,63**
Infecção no cateter	2 (8,3%)	5 (19,2%)	0,24**
Infecção por fungo	4 (16,7%)	3 (11,5%)	0,45**
Tiflíte	1 (4,2%)	2 (7,7%)	0,60**

* Qui-quadrado

** teste exato de Fischer

A distribuição dos germes isolados nos culturais não diferiram significativamente entre os que utilizaram e os que não utilizaram fatores de crescimento, conforme mostra a tabela 13. Vários pacientes tiveram mais de um germe isolado e 17 pacientes não tiveram nenhum germe isolado em culturais.

TABELA 13 - COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS – GERMES ISOLADOS

	TOTAL	GRUPO CONTROLE	GRUPO FATOR DE CRESCIMENTO
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	8	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	1	1
<i>Streptococcus sp.</i>	4	2	2
<i>Klebsiella sp.</i>	6	2	4
<i>Escherichia coli</i>	5	3	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3	0
Outros Gram negativos*	4	1	3
<i>Candida sp.</i>	8	4	4
Sem germe isolado	17	8	9

**Acinetobacter sp.* (1), *Citrobacter sp.* (1), *Enterobacter sp.* (1) e um germe Gram negativo não identificado (1).

Analisando-se as médias dos dias de neutropenia, internação, febre e plaquetopenia dos pacientes tratados e não tratados, somente houve diferença significativa entre os dois grupos em relação aos dias de neutropenia. Já os dias de internação, dias de febre e dias de plaquetopenia não diferiram significativamente entre os dois grupos, como está mostrado na tabela 14.

TABELA 14 - COMPARAÇÃO DIAS (MÉDIA E DESVIO PADRÃO)

		GRUPO CONTROLE	GRUPO FATOR DE CRESCIMENTO	p*
Dias internação	média	24,6 (10,94)	22,5 (12,48)	0,54
Dias febre	média	11,0 (6,70)	12,9 (11,99)	0,53
Dias neutropenia	média	20,0 (7,79)	15,1 (6,08)	0,016
Dias plaquetopenia	média	18,6 (8,20)	16,5 (6,76)	0,34

* teste t

Quando se excluem os óbitos dos dois grupos (já que houve um número maior no grupo que utilizou fator de crescimento), persistiu somente uma tendência à diferença entre os dias de neutropenia do grupo controle e do grupo fator de crescimento, conforme a tabela 15.

TABELA 15 - COMPARAÇÃO DIAS EXCLUINDO ÓBITOS (MÉDIA E DESVIO PADRÃO)

		GRUPO CONTROLE	GRUPO FATOR DE CRESCIMENTO	p*
Dias internação	média	25,5 (10,31)	27,1 (12,28)	0,65
Dias febre	média	11,1 (6,47)	14,0 (13,90)	0,42
Dias neutropenia	média	20,5 (6,88)	16,5 (6,34)	0,07
Dias plaquetopenia	média	18,9 (7,57)	18,7 (6,65)	0,92

* teste t

A tabela 16 mostra os gastos médios com antibióticos e com fator de crescimento nos dois grupos estudados. O gasto absoluto médio com antibióticos foi maior no grupo que não utilizou fator de crescimento, mas sem diferença estatística. Não foram computados, nesta análise, o custo com antibióticos dos pacientes que morreram.

O grupo fator de crescimento apresentou um gasto médio com filgrastima ou molgramostina de R\$ 2.283,00, novamente se excluindo os pacientes que foram a óbito. O gasto total (antibióticos mais filgrastima ou molgramostina) foi significativamente mais alto no grupo fator de crescimento ($P = 0,03$).

TABELA 16 - COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS – CUSTOS

		GRUPO CONTROLE	GRUPO FATOR DE CRESCIMENTO	P*
Gastos com antibióticos	média	RS 3893,50	RS 3441,46	0,54
Gastos com fator de crescimento	média	–	RS 2283,15	
Gasto total	média	RS 3893,50	RS 5724,60	0,03

* teste t

Custos obtidos a partir da lista de preços da BRASÍNDICE, segundo semestre de 1996, preço de venda dos laboratórios.

Os modelos de regressão logística incluíram, como variáveis dependentes, a incidência de óbito e a ausência de remissão (óbito considerado como ausência de remissão também). As variáveis explanatórias foram o uso de fator de crescimento, idade, quimioterapia utilizada (ciclofosfamida e etoposido *versus* os demais) e diagnóstico hematológico (LMA *versus* LLA)

As tabelas 17 e 18 apresentam os resultados do modelo detalhado acima. Em relação à variável óbito, existe uma tendência à associação entre uso de fator de crescimento e óbito (razão de chance de óbito 3,66 maior no grupo fator de crescimento em relação ao grupo controle) e também em relação à idade e óbito (razão de chance de óbito de 1,05 para cada ano de idade). O diagnóstico hematológico e o tratamento utilizado não influenciaram a taxa de óbito.

TABELA 17 - REGRESSÃO LOGÍSTICA / VÁRIAVEL ÓBITO

VARIÁVEL	RAZÃO DE CHANCE	INTERVALO DE CONFIANÇA	P
Uso fator de crescimento	3,66	0,77 – 17,3	0,10
Idade	1,05	0,991 – 1,12	0,09
Diagnóstico (LMA <i>versus</i> LLA)	1,04	0,23 – 4,69	0,96
Quimioterapia (ciclofosfamida e etoposido <i>versus</i> outras)	0,64	0,10 – 3,92	0,63

A ausência de remissão apresentou uma tendência a associar-se com o uso de fator de crescimento (razão de chance de 3,48) e associar-se inversamente ao diagnóstico de LMA (razão de chance de 0,28) e ao uso de ciclofosfamida + etoposido (razão de chance de 0,31).

TABELA 18 - REGRESSÃO LOGÍSTICA / VÁRIAVEL NÃO-REMISSÃO

VARIÁVEL	RAZÃO DE CHANCE	INTERVALO DE CONFIANÇA	P
Uso fator de crescimento	3,48	0,88 – 3,80	0,07
Idade	1,02	0,96 – 1,09	0,46
Diagnóstico (LMA <i>versus</i> LLA)	0,289	0,08 – 1,09	0,06
Quimioterapia (VP16 + Ciclofosfamida <i>versus</i> outras)	0,31	0,06 – 1,524	0,15

7 - DISCUSSÃO

7 - DISCUSSÃO

O tratamento das leucemias agudas, recaídas ou refratárias, empregando altas doses de quimioterápicos, apresenta sucesso variável na obtenção de remissão e altas taxas de óbito durante o período de neutropenia. Os diversos esquemas empregados obtêm uma taxa de remissão completa que varia entre 35 e 70%, com taxas de óbito, decorrentes do tratamento, variando entre 5 e 23%.

O uso de fatores de crescimento, nesta situação, ainda está pouco estudado, embora pareça lógica a sua utilização na tentativa de reduzir o longo período de neutropenia a que estes pacientes estão sujeitos. Apenas dois estudos randomizados foram encontrados na revisão bibliográfica, ambos realizados pelo mesmo grupo de pesquisadores e empregando G-CSF. O primeiro deles foi também o primeiro a ser realizado em leucemias agudas (OHNO *et al.*, 1990) e tem como mérito, além de ter sido o pioneiro, de mostrar que o uso de fatores de crescimento em leucemias agudas era seguro, não causando estimulação no clone leucêmico quando utilizado após a quimioterapia. Nele se obteve uma redução significativa no período de neutropenia e na taxa de infecções documentadas. A taxa de remissão foi semelhante entre os grupos, com uma tendência a se alcançar maior taxa no grupo que utilizou G-CSF. A taxa de óbito também foi semelhante nos dois grupos estudados. O outro estudo, publicado em 1994, abordava o uso de G-CSF como sensibilizador das células leucêmicas à quimioterapia, sendo seu uso iniciado antes da mesma e prolongado até a recuperação da aplasia (OHNO *et al.*, 1994). Este segundo estudo, bem como os estudos não randomizados revisados, não

se enquadram na abordagem desta dissertação, pois empregaram o G-CSF ou GM-CSF na tentativa de sensibilizar as células leucêmicas.

O presente estudo avaliou o resultado do tratamento de pacientes portadores de leucemia mielóide e linfóide aguda recaídos ou refratários que foram submetidos a quimioterapia de altas doses. Foi possível coletar, retrospectivamente, dados detalhados para o teste de diversas hipóteses, incluindo potenciais vieses de confusão. A frequência de casos do serviço de hematologia do hospital, considerado um centro de referência em nível estadual, tratados de forma aproximadamente padronizada, permitiu estudar-se um número suficiente de casos para apresentar este estudo.

A avaliação da taxa de óbito durante a internação era o objetivo principal deste estudo. A taxa de óbito da população em estudo, de 22%, foi semelhante à encontrada nos estudos envolvendo o tratamento de leucemias agudas recaídas, submetidas a quimioterapia de altas doses. Não se obtiveram diferenças significativas na taxa de óbito entre os pacientes que utilizaram e os que não utilizaram fator de crescimento, embora houvesse tendência à maior ocorrência de óbitos no grupo que utilizou fator de crescimento. O fato de não haver diferença entre os grupos é compatível com o observado na literatura. O estudo de OHNO também não mostrou diferença na taxa de óbito durante o período de aplasia, entre os pacientes que utilizaram G-CSF e os que utilizaram placebo (OHNO *et al.*, 1990). Nos estudos conduzidos em leucemias mielóides agudas *de novo*, principalmente em pacientes idosos (diversa da população presentemente estudada), descrevem-se períodos longos de aplasia após a quimioterapia de indução e altas taxas de infecção, e também não se observam diferenças nas taxas de óbito no período de neutropenia nos pacientes que utilizaram fatores de crescimento (STONE *et al.*, 1995; DOMBRET *et al.*, 1995; GODWIN, KOPECKY, HEAD, HYNES, BALCERZAK e APPELBAUM, 1995).

A taxa de remissão obtida com os diversos tratamentos empregados (34%) também se enquadra no referido pela literatura internacional (BROWN *et al.*, 1990, VOGLER *et al.*, 1994). Na comparação entre os dois grupos, não se evidenciaram diferenças na taxa de remissão, embora aqui, como na taxa de óbito, tenha ocorrido uma tendência a se observar maior remissão no grupo que não empregou fator de crescimento. Esta tendência foi diferente da encontrada no estudo de OHNO, onde a taxa de remissão com o uso de G-CSF foi de 50% *versus* 36% no grupo placebo ($P = 0,16$) (OHNO *et al.*, 1990). Nos ensaios clínicos randomizados que envolveram leucemia mielóide aguda *de novo*, em dois estudos foi observado aumento na taxa de remissão nos pacientes que utilizaram G-CSF (DOMBRET *et al.*, 1995; LINK *et al.*, 1996). Em outro estudo, envolvendo o uso de GM-CSF, o grupo tratado com este fator de crescimento obteve taxa de remissão significativamente inferior à do grupo controle (ZITTOUN *et al.*, 1996). Os demais estudos apresentavam taxas similares entre os grupos controles e os grupos que utilizaram G-CSF ou GM-CSF (ROWE *et al.*, 1995, STONE *et al.*, 1995).

O período médio de neutropenia foi reduzido de maneira significativa no grupo que utilizou fatores de crescimento. No entanto, quando se exclui da análise os pacientes que foram a óbito, não mais se observa uma diferença significativa. A retirada dos pacientes que foram a óbito deveu-se ao fato de que a ocorrência de óbito foi maior no grupo que utilizou fator de crescimento, e a maioria dos óbitos ocorreu nos primeiros 14 dias após o término da quimioterapia. O estudo de Ohno obteve uma redução de 8 dias no período de neutropenia dos pacientes que utilizaram G-CSF. No presente estudo, observou-se uma redução de 4 dias ($P = 0,07$). Em todos os ensaios clínicos envolvendo o uso de fatores de crescimento após a quimioterapia se observou uma redução significativa no período de neutropenia. O período de plaquetopenia não foi diferente entre os grupos, bem como a média de dias de internação após a quimioterapia. Em relação a este último dado, apenas um estudo, envolvendo o uso de G-CSF

após quimioterapia para pacientes com leucemia mielóide aguda, mostrou redução no período de internação (HEIL *et al.*, 1995).

Outro ponto importante analisado foi a incidência de quadros infecciosos no período de neutropenia. Todos os pacientes apresentaram febre, cuja duração não diferiu entre os pacientes que utilizaram ou não utilizaram fator de crescimento. A incidência dos diversos processos infecciosos foi semelhante entre os dois grupos, bem como os germes isolados nos culturais. No ensaio clínico anteriormente referido (OHNO *et al.*, 1990), a média de dias de febre foi semelhante nos dois grupos. A taxa de infecções documentadas, porém, foi significativamente menor no grupo que recebeu G-CSF ($P = 0,028$). A média de dias de febre sem foco foi semelhante nos dois grupos (OHNO *et al.*, 1990). Nos estudos envolvendo leucemia mielóide aguda *de novo*, a incidência de febre entre os grupos que utilizaram ou não utilizaram fatores de crescimento foi variável: em alguns estudos mostrou diferença em favor do uso de fator de crescimento (HEIL *et al.*, 1995; GODWIN, KOPECKY, HEAD, HYNES, BALCERZAK e APPELBAUM, 1995) e em outros não (DOMBRET *et al.*, 1995; LINK *et al.*, 1996).

Entre os pacientes que morreram no período de estudo, observou-se uma tendência de maior número de óbitos nos pacientes que eram portadores de pneumonias e nos pacientes onde não se havia conseguido isolar germe nos culturais. A associação entre pneumonia ou insuficiência respiratória e uma maior frequência de óbito é conhecida da literatura (ELTING, RUBENSTEIN, ROLSTON E BODEY, 1997; BLOT, GUIGUET, NITENBERG, LECLERCQ, GACHOT e ESCULIER, 1997). Já uma associação específica entre óbito e ausência de germe não é encontrada na literatura, embora se saiba que, na maioria dos casos de neutropenia febril, não se consiga isolar o germe responsável (em até 70% dos casos) (PIZZO, 1993). Assim, esta tendência à associação pode ser apenas incidental.

O custo com antibióticos foi menor no grupo que utilizou fator de crescimento, porém esta diferença não teve significância estatística. Quando se acresceu a este custo o que foi gasto com fator de crescimento, encontrou-se um custo significativamente maior no grupo que utilizou G-CSF ou GM-CSF em relação aos que não os utilizaram. No estudo de Ohno, não foi analisado este aspecto. Nos ensaios clínicos envolvendo leucemia mielóide aguda *de novo*, apenas em dois estudos houve a preocupação de avaliar o número de dias de uso de antibióticos e, nos dois estudos, este uso foi significativamente menor nos pacientes que utilizaram fator de crescimento (HEIL *et al.*, 1995; GODWIN, KOPECKY, HEAD, HYNES, BALCERZAK e APPELBAUM, 1995). Os poucos estudos de custo/efetividade envolveram, principalmente, tumores sólidos e apenas um deles, o transplante autólogo de medula óssea. Estes estudos sugerem que o uso de fatores de crescimento, nestas circunstâncias, pode resultar em economia, dependendo do custo hospitalar e do risco do paciente desenvolver neutropenia febril. Quanto maior o custo hospitalar e quando maior o risco do paciente adquirir uma infecção no período de neutropenia, mais benéfico pode ser o uso dos fatores de crescimento na redução de custos (LYMAN, LYMAN, SANDERSON E BALDUCCI, 1993; GOA e BRYSON, 1994; UYL DE GROOT VELLENGA e RITTEN, 1996).

A análise multivariada, empregando modelos de regressão logística, foi usada para analisar as variáveis óbito e ausência de remissão. Na análise da variável óbito, as variáveis uso de fator de crescimento, idade, diagnóstico hematológico e tratamento quimioterápico utilizado não demonstraram significância prognóstica. A análise da variável ausência de remissão também não obteve significância prognóstica em relação ao uso de fatores de crescimento, idade, diagnóstico hematológico e quimioterapia utilizada.

O desenho deste estudo não é o mais adequado para avaliar a eficácia dos fatores de crescimento no tratamento de leucemias agudas. No período de observação, houve uma determinada faixa de tempo em que conviveram pacientes que utilizaram e

não utilizaram fator de crescimento. A dificuldade em se obter G-CSF ou GM-CSF poderia tê-los reservado para as situações mais graves, apesar da aparente similitude de fatores prognósticos dos dois grupos. Assim, não se pode excluir que um viés de indicação possa explicar a tendência a um maior risco de incidência de desfechos desfavoráveis nos pacientes tratados com fatores de crescimento. Pode-se deduzir, no entanto, que a utilização dos fatores de crescimento não corrigiu o pior prognóstico teórico dos pacientes.

Uma outra limitação dos quasi-experimentos é de que novas terapias se acompanham de várias outras convicções e mudanças de cuidados que tendem a favorecer-las. Entretanto, no caso específico, não se evidenciou esta situação, pois, pelo contrário, o uso dos fatores de crescimento não alterou a evolução dos pacientes.

O tamanho da amostra estudada certamente é insuficiente, o que poderia explicar porque muitos dos resultados, embora apontem tendências, não mostraram diferenças estatisticamente significativas.

A presença de mucosite, evento freqüente e grave que ocorre nos pacientes neutropênicos submetidos a quimioterapia de altas doses não foi avaliada neste estudo. Isto poderia constituir-se em um viés de confusão, pois pacientes que apresentam-se com mucosite têm maior permeabilidade do trato digestivo a germes (especialmente Gram negativos) e, assim, têm predisposição para infecções por estes germes e maior risco de óbito. Como os pacientes utilizaram diferentes esquemas de quimioterapia, poderíamos estar encontrando, por exemplo, esquemas quimioterápicos indutores de mucosite em maior número no grupo que utilizou fatores de crescimento. Na análise univariada, em que estudamos a relação entre óbito e uso de um determinado esquema de quimioterapia (etoposido e ciclofosfamida) que tem como efeito adverso freqüente o surgimento de mucosite, a utilização deste esquema não se mostrou um fator prognóstico no risco de óbito. Assim, julgamos ser pouco provável a ocorrência do viés citado

acima. O fato de não termos analisado a cariotipagem e a imunofenotipagem das células leucêmicas no momento da recidiva (dado não disponível em algum dos pacientes) também pode ser encarado como um potencial viés de confusão. A presença de alterações cariotípicas de mau prognóstico (cromossoma Filadélfia ou trissomia do cromossoma 8, por exemplo), fenótipo T (para leucemia linfóide aguda) ou M6/M7 (para leucemia mielóide aguda), em um determinado grupo, pode ocasionar uma menor taxa de remissão, independente dos demais fatores. É verdade que estes fatores de mau prognóstico foram definidos em situações de primeiro tratamento quimioterápico, o que não ocorre neste estudo.

Nossos resultados estão de acordo com a maioria dos obtidos no estudo de Ohno, com exceção do período de neutropenia que foi reduzido significativamente naquele trabalho (OHNO *et al.*, 1990). Em relação aos estudos não randomizados, realizados no início da década com leucemias mielóides agudas recaídas (ESTEY *et al.*, 1990, BÜCHNER *et al.*, 1991), os resultados são semelhantes ao primeiro, pois o segundo demonstrou uma redução significativa na taxa de óbito no período de aplasia. Os estudos com leucemias mielóides agudas “de novo”, embora abranjam uma população menos tratada, têm características semelhantes (apresentam longos períodos de aplasia, taxas elevadas de infecção e de mortalidade, especialmente nos pacientes idosos), podendo ser utilizados para comparação. Como já vimos anteriormente, os resultados destes estudos também não são conclusivos em relação ao benefício da utilização de fatores de crescimento neste contexto. A maioria dos seus resultados se assemelha aos obtidos neste estudo.

Observa-se então um paradoxo. Sabe-se que o grau e a duração do período de neutropenia é um fator de risco para a aquisição e severidade de infecções e para o óbito (BODEY, BUCKLEY, SATHE e FREIREICH, 1966). Embora esta afirmação date de mais de 30 anos, estudos recentes a confirmam, tanto em quimioterapia quanto em

transplantes de medula óssea (OFFNER, SCHOCH, FISCHER, TOROK-STORB e MARTIN, 1996; ELTING, RUBENSTEINS, ROLSTON e BODEY, 1997). Com a disponibilidade dos fatores de crescimento da linhagem mielóide parecia lógico que, ao intervirmos na neutropenia, reduzindo a sua duração, obteríamos uma menor taxa de infecções, menor mortalidade no período de neutropenia e resultados melhores com os esquemas quimioterápicos. Isto aconteceu parcialmente na neutropenia decorrente de quimioterapia empregada em tumores sólidos. Entretanto, nas leucemias agudas, com seus prolongados períodos de aplasia, onde se esperava reduções significativas e de grande impacto, os resultados foram pouco consistentes. Qual a razão para esta discrepância? Por que este e a maioria dos grandes estudos, envolvendo fatores de crescimento para a redução do período de neutropenia após quimioterapia em leucemias agudas, falharam em demonstrar um evidente benefício?

O G-CSF e o GM-CSF atuam sobre células hematopoiéticas já comprometidas com a linhagem mielóide, ou seja, células já relativamente diferenciadas dentro da diferenciação das células progenitoras (G-CFU e GM-CFU). Assim, os fatores de crescimento mielóides não promovem a aceleração de todo o processo da diferenciação das células progenitoras hematopoiéticas e sim aceleram a mielopoiese, se esta já estiver estabelecida. É necessário que os progenitores cheguem no estágio de G-CFU ou GM-CFU para que o G-CSF e o GM-CSF possam atuar, gerando então um aumento significativo no número de neutrófilos circulantes. A diferença encontrada em praticamente todos os estudos na recuperação dos neutrófilos é assim explicada, como também é por isto explicado o motivo porque, neste estudo especificamente, não ocorreu benefício em relação à redução na taxa de óbitos, já que a maioria dos mesmos ocorreu nos primeiros quatorze dias, período em que a atuação dos fatores de crescimento não se desenvolveu a pleno (no estudo, a recuperação das contagens de neutrófilos no grupo que utilizou fator de crescimento ocorreu, em média, 16 dias após o término da quimioterapia).

Os fatores de crescimento também têm pouca interferência em outros fatores de risco para infecções neste tipo de paciente. Fatores como a presença de mucosite (que ocorre freqüentemente em pacientes submetidos a altas doses de citarabina, droga mais utilizada neste estudo), uso de cateteres de longa permanência, com conseqüente quebra da barreira protetora que a pele oferece, estado imunocomprometido prévio dos pacientes (muitos deles já neutropênicos antes de iniciar o tratamento quimioterápico) afetam, independentemente do uso de G-CSF e GM-CSF, a evolução destes pacientes (CROOCKEWIT, KOOPMANS e DE PAUW, 1996). No nosso meio, fatores adicionais, poucas vezes encontrados nos países desenvolvidos, podem também influenciar a evolução desfavorável dos pacientes com leucemia aguda recaída, tais como desnutrição, baixo nível sócio-econômico, dificuldade de acesso às unidades de saúde e a medicamentos. Embora neste estudo não se tenha avaliado a influência destes fatores no desfecho dos casos, um estudo realizado em Minas Gerais mostrou que a má nutrição é um fator prognóstico desfavorável no tratamento de leucemia linfóide aguda em crianças (VIANA *et al.*, 1994).

Talvez os fatores de crescimento devam ser utilizados de maneira mais racional no tratamento das leucemias agudas (recaídas ou não). No âmbito dos transplantes de medula óssea autólogo, já existem estudos mostrando que podemos iniciar o uso de G-CSF 6 dias após a infusão da medula óssea, com resultados idênticos aos obtidos quando iniciamos seu uso no dia seguinte após a infusão. Face à semelhança que se observa entre os pacientes submetidos a transplante autólogo e os pacientes submetidos a quimioterapia em leucemias agudas recaídas, esta abordagem talvez possa ser melhor estudada. Outra abordagem possível e pouco estudada no contexto das leucemias agudas é o início do uso de fatores de crescimento após o surgimento de febre ou outros sinais de infecção. Nos estudos já revisados no início desta dissertação, não se observou uma evolução significativamente melhor nos pacientes que utilizaram fatores de crescimento, porém, os estudos foram conduzidos, em sua maioria, em pacientes com tumo-

res sólidos ou então com portadores de leucemia linfóide aguda “de novo”. Ohno mostrou que, em pacientes portadores de leucemia mielóide aguda “de novo” que apresentaram infecções graves após a quimioterapia de indução ou de consolidação, o uso de G-CSF proporcionou uma tendência à melhor sobrevida livre de doença e uma taxa de remissão superior. O estudo não foi randomizado, porém demonstra uma abordagem que pode ser tentada em outros estudos (OHNO *et al.*, 1993). Um estudo realizado na Áustria, em crianças portadoras de tumores sólidos com neutropenia e sepsis após quimioterapia, empregou GM-CSF na tentativa de reduzir a morbimortalidade da situação. No primeiro dia de uso do GM-CSF, foi medido o número de células CD 34 circulantes e colocado o sangue em cultura (ensaio clonogênico para medição de G-CFU). Observou-se que a velocidade de recuperação das contagens de leucócitos e neutrófilos era predita pela quantidade de células CD 34 circulantes no início da utilização do GM-CSF, assim como pelo número de colônias G-CFU (FINK *et al.*, 1995). Como o estudo não apresentou grupo controle, não sabemos se esta correlação não está presente, também, nos pacientes que não utilizam fatores de crescimento, e se a presença de células CD 34 circulantes não pode ser um marcador precoce da recuperação das contagens de neutrófilos. Se assim fosse, poderíamos guardar o uso dos fatores de crescimento para situações onde esta recuperação fosse ser mais prolongada.

8 - CONCLUSÕES

8 - CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente estudo permitem que se estabeleçam as seguintes conclusões:

1 - não houve diferença na mortalidade hospitalar dos pacientes portadores de leucemias agudas, recaídas ou refratárias, que utilizaram, ou não, fatores de crescimento;

2 - o uso de fatores de crescimento não proporcionou redução nos gastos com antibióticos durante a internação;

3 - obteve-se a redução nos dias de neutropenia nos pacientes que utilizaram fatores de crescimento. O mesmo não ocorreu em relação aos dias de plaquetopenia, dias de febre e dias de internação;

4 - a taxa de remissão completa foi semelhante entre os pacientes que utilizaram e os que não utilizaram fatores de crescimento;

5 - a incidência de infecções foi semelhante entre os dois grupos.

9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abboud MR, Laver J, Xu F, Weksler B, Bussel J. Serum levels of GM-CSF are elevated in patients with thrombocytopenia. *British Journal of Haematology* 1996; 92:486-488.

Advani R, Chao NJ, Horning SJ, Blume KG, Ahn DK, Lamborn KR, Fleming NC, Bonnem EM, Greenberg PL. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as an adjunct to autologous hemopoietic stem cell transplantation for lymphoma. *Annals of Internal Medicine* 1992;116:183-189.

American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: Evidence-based, clinical practice guidelines. *Journal of Clinical Oncology* 1994;12(11):2471-2508.

Anaissie EJ, Vartivarian S, Bodey GP, Legrand C, Kantarjian H, Abi-Said D, Karl C, Vadhan-Raj S. Randomized comparison between antibiotics alone and antibiotics plus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (*Escherichia coli*-derived) in cancer patients with fever and neutropenia. *American Journal of Medicine* 1996;100:17-23.

Anderlini P, Przepiora D, Champlin R, Körbling M. Biologic and clinical effects of granulocyte colony-stimulating factor in normal individuals. *Blood* 1996;88(8): 2819-2825.

Antmann KS, Griffin JD, Elias A, Socinski MA, Ryan L, Cannistra AS, Oette D, Whitley M, Frei III E, Schnipper LE. Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on chemotherapy-induced myelosuppression. *New England Journal of Medicine* 1988;319(10):593-598.

Archimbaud E, Leblond V, Michallet M, Cordonnier C, Fenaux P, Travade P, Dreyfus F, Jaubert J, Devaux Y, Fiere D. Intensive sequential chemotherapy with mitoxantrone and continuous infusion etoposide and cytarabine for previously treated acute myelogenous leukemia. *Blood* 1991;77(9):1894-1900.

Archimbaud E, Fenaux P, Reiffers J, Cordonnier C, Leblond V, Travade P, Troussard X, Tilly H, Auzanneau G, Marie JP, Ffrench M, Berger E. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in association to timed-sequential chemotherapy with mitoxantrone, etoposide and cytarabine for refractory acute myelogenous leukemia. *Leukemia* 1993;7(3) :372-377.

Bacigalupo A, Piaggio G, Podesta M, Van lint MT, Valboresi M, Lercari G, Mori PG, Pasino M, Franchini E, Rivabella L, Figari O, Sogno G, Raffo MR, Marmont AM. Collection of peripheral blood hematopoietic progenitors (PBHP) from patients with severe aplastic anemia (SAA) after prolonged administration of granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1993;82(5):1410-1414.

Baer MR, Bernstein SH, Brunetto VL, Neinonen K, Mrozek K, Swann VL, Mindermann H, Block AW, Pixley LA, Christiansen NP, Fay JW, Barcos M, Rustum Y, Herzig GP, Bloomfield CD. Biological effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients with untreated acute myeloid leukemia. *Blood* 1996;87(4):1484-1494.

Bassan R, Rambaldi A, Amaru R, Motta T, Barbui T. Unexpected remission of acute myeloid leukemia after GM-CSF. *British Journal of Haematology* 1994;87:835-838.

Bastion Y, Reyes F, Bosly A, Gisselbrecht C, Yver A, Gilles E, Maral J, Coiffier B. Possible toxicity with the association of G-CSF and bleomycin (letter). *Lancet* 1994;343:1221-1222.

Bensinger WI, Price TH, Dale DC, Appelbraun FR, Clift R, Lilleby K, Williams B, Storb R, Thomas ED, Buckner CD. The effects of daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood* 1993;81(7):1883-1888.

Bensinger WI, Clift RA, Anasetti C, Appelbaum FA, Demirer T, Rowley S, Sandmaier BM, Torok-Storb B, Storb R, Dean Buckner C. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cell mobilized by recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Stem Cells* 1996;14:90-105.

Bergmann L, Tarakas T, Knuth A, Lautenschläger G, Mitrou PS, Hoelzer D. Recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor after combined chemotherapy in high-grade non-hodgkin's lymphoma – a randomized pilot study. *European Journal of Cancer* 1995;31A(13):2164-2168.

Bernell P, Kimby E, Hast R. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in combination with standard induction chemotherapy in acute myeloid leukemia evolving from myelodysplastic syndromes:A pilot study. *Leukemia* 1994;8(10):1631-1639.

Bettelheim P, Valent P, Andreeff M, Tarufi A, Haimi J, Gorischek C, Muhm M, Sillaber C, Haas O, Vieder L, Maurer D, Schulz G, Speiser W, Kier P, Hinterberger W, Lechner K. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in combination with standard induction chemotherapy in de novo acute myeloid leukemia. *Blood* 1991;77(4):700-711.

Biesma B, de Vries EG, Willemse PH, Sluiter WJ, Postmus PE, Limburg PC, Stern AC, Vellenga E. Efficacy and tolerability of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with chemotherapy-related leukopenia and fever. *Eur J Cancer* 1990;26(9):932-6.

Bishop MR, Anderson JR, Jackson JD, Bierman PJ, Reed EC, Vose JM, Armitage JO, Warkentin PI, Kessinger A. High dose therapy and peripheral blood progenitor cell transplantation: effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on the autograft. *Blood* 1994;83(2):610-616.

Blot F, Guiguet M, Nitenberg G, Leclercq B, Gachot B, Esculier B. Prognostic factors for neutropenic patients in an intensive care unit: Respective roles of underlying malignancies and acute organ failure. *European Journal of Cancer* 1997;33(7):1031-1037.

Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative relationship between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Annals of Internal Medicine* 1966;64:328-340.

Boogaerts MA, Demuyneck HM. Consensus on the clinical use of myeloid growth factors. *Current Opinion in Hematology* 1996, 3:241-246.

Brandt SJ, Peters WP, Atwater SK, Kurtzberg J, Borowitz MJ, Jones RB, Shpall EJ, Bast Jr RC, Gilbert CJ, Oette DH. Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on hematopoietic reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *New England Journal of Medicine* 1988;318(14):869-876.

Bregni M, Siena S, Nicola M, Doderio A, Peccatori F, Ravagnani F, Danesini G, Laffranchi A, Bonadonna G, Gianni AM. Comparative effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and granulocyte colony-stimulating factor after high-dose cyclophosphamide cancer therapy. *Journal of Clinical Oncology* 1996;14(2):628-635.

Brodsky RA, Bedi A, Jones RJ. Are growth factors leukemogenic? *Leukemia* 1996;10:175-177.

Bronchud MH, Scarffe JH, Thatcher N, Crowther D, Souza LM, Alton NK, Testa NG, Dexter TM. Phase I/II study of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients receiving intensive chemotherapy for small cell lung cancer. *British Journal of Cancer* 1987;56:809-813.

Brown RA, Herzig RH, Wolff SN, Frei-Lahr D, Pineiro L, Bolwell BJ, Lowder JN, Harden EA, Hande KR, Herzig GP. High-dose etoposide and cyclophosphamide without bone marrow transplantation for resistant hematologic malignancy. *Blood* 1990;76(3):473-479.

Brugger W, Birken R, Bertz H, Hecht T, Pressler K, Frisch J, Schulz G, Mertelsmann R, Kanz L. Peripheral blood progenitor cells mobilized by chemotherapy plus granulocyte-colony stimulating factor accelerate both neutrophil and platelet recovery after high-dose VP 16, ifosfamide and cisplatin. *British Journal of Haematology* 1993;84:402-407.

Buchner T, Hiddemann W, Koenigsmann M, Zuhendorf M, Wormann B, Boeckmann A, Freire EA, Innig G, Maschmeyer G, Ludwig WD, Sauerland MC, Heinecke A, Schulz G. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia at higher age or after relapse. *Blood* 1991;78(5):1190-1197.

Bui BN, Chevallier B, Chevreau C, Krakowski I, Peny AM, Thyss A, Maugard-Laboulin C, Cupissol D, Fargeot P, Bonichon F, Coindre JM, Gil B, Cour-Chabernaud V. Efficacy of lenograstim on hematologic tolerance to MAID chemotherapy in patients with advanced soft tissue sarcomas and consequences on treatment dose-intensity. *Journal of Clinical Oncology* 1995;13(10):2629-2636.

Bunn PA, Crowley J, Kelly K, Hazuka MB, Beasley K, Upchurch C, Livingston R. Chemoradiotherapy with or without granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of limited-stage small-cell lung cancer: A prospective phase III randomized study of the southwest oncology group. *Journal of Clinical Oncology* 1995;13(7):1632-1641.

Busch FW, Pilgrim TB, Krämer A, Ehninger G. Plasma levels of granulocyte colony-stimulating factor in patients after allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia correlate with engraftment of transplanted marrow. *Bone Marrow Transplantation* 1997;19(7):653-659.

Calderwood S, Romeyer F, Blanchette V, Chan H, Doyle J, Greenberg M, Lorenzana A, Malkin D, Saunders F, Weitzman S, Zipursky A, Freedman MH. Concurrent RhGM-CSF does not offset myelosuppression from intensive chemotherapy: Randomized placebo-controlled study in childhood acute lymphoblastic leukemia. *American Journal of Hematology* 1994;47:27-32.

Cannistra SA, DiCarlo J, Groshek P, Kanakura Y, Berg D, Mayer RJ, Griffin JD. Simultaneous administration of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and cytosine arabinoside for the treatment of relapsed acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1991;5(3) :230-238.

Capizzi RL, Poole M, Cooper MR, Richards II F, Stuart JJ, Jackson DV, White D, Spurr CL, Hopkins JO, Muss HB, Rudnick SA, Wells R, Gabriel D, Ross D. Treatment of poor risk acute leukemia with sequential high-dose ARA-C and Asparaginase. *Blood* 1984;63(3):694-700.

Cebon J, Layton JE, Maher D, Morstyn G. Endogenous haemopoietic growth factors in neutropenia and infection. *British Journal of Haematology* 1994;86:265-274.

Chakraborty A, White SM, Schaefer TS, Ball ED, Dyer KF, Tweardy DJ. Granulocyte colony-stimulating factor activation of $\text{stat3}\alpha$ and $\text{stat3}\beta$ in immature normal and leukemic human myeloid cells. *Blood* 1996;88(7):2442-2449.

Chambers LA & Garcia LW. Lack of effect on platelet increment of granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor following autologous bone marrow transplantation for malignant lymphoma. *Transfusion* 1994;34(4):221-225.

Chatta GS, Price TH, Allen RC, Dale DC. Effects of in vivo recombinant methionyl human granulocyte colony-stimulating factor on the neutrophil response and peripheral blood colony-forming cells in healthy young and elderly adult volunteers. *Blood* 1994;84(1):2923-2929.

Chevalier B, Chollet P, Merrouche Y, Roche H, Fumoleau P, Kerbrat P, Genot JY, Fargeot P, Olivier JP, Fizames C, Clavel M, Yver A, Chabernaude VC. Lenograstim prevents morbidity from intensive induction chemotherapy in the treatment of inflammatory breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1995;13(7):1564-1571.

Chiba S, Inamori K, Mitami K, Hirau H, Yazaki Y. marked and reproducible increase in trilineage blood cell counts by administration of granulocyte colony-stimulating factor in a patient with refractory anaemia with excess blasts in transformation. *British Journal of Haematology* 1994;86:665-667.

Choi MV, Mant MJ, Turner A, Akabutu JJ, Aaron SL. Successful reversal of neutropenia in Felty's syndrome with recombinant granulocyte colony stimulating factor. *British Journal of Haematology* 1994;86:663-664.

Clarke K, Bassar R, Fox RM. Haematopoietic growth factors and chemotherapy: new horizons (editorial). *Medical Journal of Australia* 1996;165:303-304.

Costa RM, Aniceto C, Jesus FM, Mendes M. Quick healing of leg ulcers after molgramostim (letter). *Lancet* 1994;344:481-482.

Crawford J, Ozer H, Stoller R, Johnson D, Lyman G, Tabbara I, Kris M, Grous J, Picozzi V, Rausch G, Smith R, Gradishar W, Yahanda A, Vincent M, Stewart M, Glaspy J. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine* 1991;325(3):164-170.

Croockewit AJ, Koopmans PP, De Pauw BE. Should hematopoietic growth factors routinely be given concurrently with cytotoxic chemotherapy? *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1996;59(1):1-6.

Dale DC, Bonilla MA, Davis MW, Nakanishi AM, Hammond WP, Kurtzberg J, Wang W, Jakubowski A, Winton E, Lalezari P, Robinson W, Glaspy JA, Emerson S, Gabrilove J, Vincent M, Boxer LA. A randomized controlled phase III trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) for treatment of severe chronic neutropenia. *Blood* 1993;81(10):2496-2502.

De Haas M, Kerst JM, Van Der Schoot CE, Calafat J, Hack CE, Nuijens JH, Roos D, Van Oers RHJ, Von Dern Borne AEGK. Granulocyte colony-stimulating factor administration to healthy volunteers: Analysis of the immediate activating effects on circulating neutrophils. *Blood* 1994;84(11):3885-3894.

De Witte T, Gratwohl A, Van Der Lely N, Bacigalupo A, Stern AC, Speck B, Schattenberg A, Nissen C, Gluckman E, Fibbe WE. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor accelerates neutrophil and monocyte recovery after allogeneic T-cell-depleted bone marrow transplantation. *Blood* 1992;79(5):1359-1365.

De Witte T, Schattenberg T. Treatment of leukemia in relapse after bone marrow transplantation (letter). *New England Journal of Medicine* 1994;330(9):645-646.

Demetri GD, Griffin JD. Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood* 1991;78(11):2791-2808.

Demetri GD. Beyond supportive care: What are the next questions in the use of hematopoietic cytokines with cytotoxic chemotherapy? *Blood* 1993;82(8):2278-2280.

Dombret H, Chastang C, Fenaux P, Reiffers J, Bordessoule D, Bouabdallah R, Mandelli F, Ferrant A, Auzanneau G, Tilly H, Yver A, Degos L. A controlled study of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in elderly patients after treatment for acute myelogenous leukemia. *New England Journal of Medicine* 1995;332(25):1678-1683.

Dong F, Brynes R, Tidow N, Welte K, Löwenberg B, Touw IP. Mutations in the gene for the granulocyte colony-stimulating factor receptor in patients with acute myeloid leukemia preceded by severe congenital neutropenia. *New England Journal of Medicine* 1995;333(8):487-493.

Elting LS, Rubenstein EB, Rolston KVI, Bodey GP. Outcome of bacteremia in patients with cancer and neutropenia. Observations from two decades of epidemiological and clinical trials. *Clinical Infectious Diseases* 1997;25:247-259.

Estey E, Thall PF, Kantarjian H, O'Brien S, Koller CA, Beran M, Gutterman J, Deisseroth A, Keating M. Treatment of newly diagnosed acute myelogenous leukemia with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) before and during continuous-infusion high-dose ara-C + daunorubicin: comparison to patients treated without GM-CSF. *Blood* 1992;79(9):2246-2255.

Estey E, Thall P, Andreeff M, Beran M, Kantarjian H, O'Brien S, Escudier S, Robertson LE, Koller C, Kornblau S, Pierce S, Freireich EJ, Deisseroth A, Keating M. Use of granulocyte colony-stimulating factor before, during and after fludarabine plus cytarabine induction therapy of newly diagnosed acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndromes: Comparison with fludarabine plus cytarabine without granulocyte colony-stimulating factor. *Journal of Clinical Oncology* 1994;12 (4):671-678.

Estey EH, Dixon D, Kantarjian HM, Keating MJ, McCredie K, Bodey GP, Kurzrock R, Talpaz M, Freireich EJ, Deisseroth AB, Guttermann JU. Treatment of poor-diagnosis, newly diagnosed acute myeloid leukemia with ara-C and recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1990;75(9):1766-1769.

Estey EH, Kantarjian H, Keating MJ. Therapy for acute myeloid leukemia. In Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE. Hematology - basic principles and practice. Segunda edição . Editora Churchill Livingstone 1995.

Euler HH, Schwab UM, Schroeder JO. Filgrastim for lupus neutropenia (letter). *Lancet* 1994;344:1513-1514.

Faucher C, Le Corroller AG, Chabannon C, Novakovitch G, Manonni P, Moatti JP, Nouyrigat P, Maraninchi D, Blaise D. Administration of G-CSF can be delayed after transplantation of autologous G-CSF-primed blood stem cells:a randomized study. *Bone marrow Transplantation* 1996;17:533-536.

Feremans W, Le Moine F, Ravoet C, Lambermont M, Bastin G, Delville JP, Pradier O, Dupont E, Capel P. Optimal blood stem cell mobilization using 10 µg/kg granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) alone for high-dose melphalan intensification in multiple myeloma:na inpatient controlled study. *American Journal of Hematology* 1994;47:135-138.

Feusner JH, Hastings CA. Infections in children with acute myelogenous leukemia. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 1995;17(3):234-247.

Fink FM, Maurer-Dengg K, Fritsch G, Mann G, Zoubek A, Falk M, Gardner H. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in septic neutropenic pediatric cancer patients:Detection of circulating hematopoietic precursor cells correlates with rapid granulocyte recovery. *Medical and Pediatric Oncology* 1995;25:365-371.

Foster PF, Mital D, Sankary HN, McChesney LP, Marcon J, Koukoulis G, Kociss K, Leurgans S, Whiting JF, Willians JW. The use of granulocyte colony-stimulating factor after liver transplantation. *Transplantation* 1995;59(11):1557-1563.

Frampton JE, Lee CR, Faulds D. Filgrastim – A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in neutropenia. *Drugs* 1994;48(5):732-760.

Fujiwaki R, Hata T, Hata K, Kitao M, Furuya H, Katoh Y. Effective treatment of drug-induced agranulocytosis using granulocyte colony stimulating factor in pregnancy. *Gynecologic Obstetric Investigation* 1995;40:276-277.

Gabrilove JL, Jakubowski A, Scher H, Sternberg C, Wong G, Grous J, Yagoda A, Fain K, Moore MAS, Clarkson B, Oettgen HF, Alton K, Welte K, Souza L. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia associated morbidity due to chemotherapy for transitional-cell carcinoma of the urothelium. *New England Journal of Medicine* 1988;318(22):1414-1422.

Gabrilove J. The development of granulocyte colony-stimulating factor in its various clinical applications. *Blood* 1992;80(6):1382-1385.

Gale RP, Horowitz MM, Rees JKH, Gray RG, Oken MM, Estey EH, Kim KM, Zhang MJ, Ash RC, Atkinson K, Champlin RE, Dicke KA, Gajewski JL, Goldman JM, Helbig W, Henslee-Downey PJ, Hinterberger W, Jacobsen N, Keating A, Klein JP, Marmont AM, Prentice HG, Reiffers J, Rimm AA, Rowlings PA *et al.* Chemotherapy versus transplants for acute myelogenous leukemia in second remission. *Leukemia* 1996; 10(1):13-19.

Ganser A, Seipelt G, Verbeek W, Ottmann OG, Maurer A, Kolbe K, Hess U, Elsner S, Reutzel R, Wormann B, Hiddermann W, Hoelzer D. Effect of combination therapy with all-trans retinoic acid and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1994;8(3):369-375.

Gazitt Y, Tian E, Barlogie B, Reading CL, Vesole DH, Jagannath S, Schnell J, Hoffman R, Tricot G. Differential mobilization of myeloma cells and normal hematopoietic stem cells in multiple myeloma after treatment with cyclophosphamide and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1996;87(2):805-11.

Geissler K, Koller E, Hubmann E, Niederwieser D, Hinterberger W, Geissler D, Kyrle P, Knöbl P, Pabinger I, Thalhammer R, Schwarzingler I, Mannhalter C, Jaeger U, Heinz R, Linkesch W, Lechner K. Granulocyte colony-stimulating factor as an adjunct to induction chemotherapy for adult acute lymphoblastic leukemia – a randomized phase III study. *Blood* 1997;90(2):590-596.

Gerhartz HH, Engelhardt M, Meusers P, Brittinger G, Wilmanns W, Schlimok G, Mueller P, Huhn D, Musch R, Siegert W, Gerhartz D, Hartlapp JH, Thiel E, Huber C, Perschl C, Spann W, Emmerich B, Schadek C, Westerhausen M, Pees HW, Radcke H, Engert A, Terhardt E, Schick H, Binder T *et al.* Randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as adjunct to induction treatment of high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1993;82(8):2329-2339.

Gillan ER, Christensen RD, Suen Y, Ellis R, Van De Vem C, Cairo MS. A randomized, placebo-controlled trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration in newborn infants with presumed sepsis: Significant induction of peripheral and bone marrow neutrophilia. *Blood* 1994;84(5):1427-1433.

Gillespie TW, Hillyer CD. Peripheral blood progenitor cells for marrow reconstitution: mobilization and collection strategies. *Transfusion* 1996, 36:611-624.

Giralt S, Escudier S, Kantarjian H, Deisseroth A, Freireich EJ, Andersson BS, O'Brien S, Andreeff M, Fisher H, Cork A, Hirsch-Ginsberg C, Trujillo J, Stass S, Champlin RE. Preliminary results of treatment with filgrastim for relapse of leukemia and myelodysplasia after allogeneic bone marrow transplantation. *New England Journal of Medicine* 1993;329(11):757-761.

Gisselbrecht C, Prentice HG, Bacigalupo A, Biron P, Milpied N, Rubie H, Cunningham D, Legros M, Pico JL, Linch DC, Burnett AK, Scarffe JH, Siegert W, Yver A. Placebo-controlled phase III trial of lenograstim in bone-marrow transplantation. *Lancet* 1994;343:696-700

Goa KL, Bryson HM. Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. An appraisal of its pharmacoeconomics status in neutropenia associated with chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *Pharmacoeconomics* 1994;5(1):56-77.

Godwin JE, Kopecky KJ, Head DR, Hynes HE, Balcerzak SP, Appelbaum FR. A Double Blind Placebo Controlled Trial of G-CSF in Elderly Patients with Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. A Southwest Oncology Group Study . *Blood* 1995;86 (suppl):1723.

Golde DW, Neidhart JA, Scadden DT, Nimer SD. The rational use of hematopoietic growth factors. *Hematology 1995 - Education Program of the American Society of Hematology* :112-118.

Gordon B, Spadinger A, Hodges E, Ruby E, Stanley R, Coccia P. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on oral mucositis after hematopoietic stem-cell transplantation. *Journal of Clinical Oncology* 1994;12(9): 1917-1922.

Gore SD, Weng L, Burke PJ. Identification of growth factor-responsive acute myelogenous leukemia based on factor-dependence for survival and proliferation. *Leukemia* 1994;8(11):1854-1863.

Grant SM, Heel RC. Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rGM-CSF). *Drugs* 1992;43(4):516-560.

Green M. Dose intensive chemotherapy with cytokine support. *Seminars in Oncology* 1994;21 (1 suppl 1):1-6.

Gulati SC, Bennett CL. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) as adjuvant therapy in relapsed Hodgkin's disease. *Annals of internal Medicine* 1992;116(3):177-182.

Hansen F, Stenbygaard L, Skovsgaard T. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on hematologic toxicity induced by high-dose chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. *Acta Oncologica* 1995;34(7):919-924.

Hansen PB, Johnsen HE, Ralfkiaer E, Hansen NE. Blod neutrophil increment after a single injection of rhG-CSF or rhGM-CSF correlates with marrow cellularity and may predict the grade of neutropenia after chemotherapy. *British Journal of Haematology* 1993;84:581-585.

Hartmann LC, Tschetter LK, Habermann TM, Ebbert LP, Johnson PS, Mailliard JA, Levitt R, Suman VJ, Witzig TE, Wieand HS, Miller LL, Moertel CG. Granulocyte colony-stimulating factor in severe chemotherapy-induced afebrile neutropenia. *New England Journal of Medicine* 1997;336(25):1776-1780.

Heil G, Chadid L, Hoelzer D, Seipelt G, Mitrou P, Huber Ch, Kolbe K, Mertelsmann R, Lindemann A, Frisch J, Nicolay U, Gaus W, Heimpel H. GM-CSF in a double-blind randomized, placebo-controlled trial in therapy of adult patients with de novo acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1995;9:3-9.

Heil G, Hoelzer D, Sanz MA, Lechner K, Liu Yin JA, Papa G, Noens L, Szer J, Ganser A, O'Brien C, Matcham J, Barge A. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of filgrastim in remission induction and consolidation therapy for adults with de novo acute myeloid leukemia. *Blood* 1997 Dec;90(12):4710-8.

Hermans P, Gori A, Lemone M, Franchioly P, Clumeck N. Possible role of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) on the rapid progression of AIDS-related Kaposi's sarcoma lesion *in vivo*. *British Journal of Haematology* 1994;87:413-414.

Hoelzer D. Acute lymphocytic leukemia in adults. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE. *Hematology – basic principles and practice*. Segunda edição. Editora Churchill Livingstone 1995.

Humphreys JM, Stringer RE, Hart CA, Edwards SW. Effect of cytotoxic drugs on mature neutrophil function in the presence of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *British Journal of Haematology* 1993;84:316-321.

Hurwitz GA, Mounce KG, Grier HE. Treatment of patients with acute myelogenous leukemia: Review of clinical trials of the past decade. *Journal of Pediatrics Hematology/Oncology* 1995;17(3):185-197.

Imai Y, Fukuoka T, Nakatani A, Ohsaka A, Takahashi A. Sustained trilineage recovery and disappearance of abnormal chromosome clone in a patient with myelodysplastic syndrome following combination therapy with cytokines (granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin) and high-dose methylprednisolone. *British Journal of Haematology* 1996;93:146-150.

Imashuku S, Hibi S, Nakajima F, Mitsui T, Yokoyama S, Kojima S, Matsuyama T, Nakahata T. A review of 125 cases to determine the risk of myelodysplasia and leukemia in pediatric neutropenic patients after treatment with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (letter). *Blood* 1994;84:2380-2381.

Jones SE, Schottstaedt MW, Duncan LA, Kirby RL, Good RH, Mennel RG, George TK, Snyder DA, Watkins DL, Denham CA, Hayes FA, Rubin AS. Randomized double-blind prospective trial to evaluate the effects of sargramostim versus placebo in a moderate-dose fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide adjuvant chemotherapy program stage II and III breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1996;14(11):2976-2983.

Katz JA, Mustafa MM. Management of fever in granulocytopenic children with cancer. *Pediatric Infection Disease Journal* 1993;12(4):330-339.

Kern W, Schleyer E, Unterhalt M, Wörmann B, Büchner T, Hiddemann W. High antileukemic activity of sequential high-dose cytosine arabinoside and mitoxantrone in patients with refractory acute leukemias. *Cancer* 1997;79:59-68.

Khwaja A, Linch DC, Goldstone AH, Chopra R, Marcus RE, Winperis JZ, Russel NH, Haynes AP, Milligan DW, Leyland MJ, Winfield DA, Hancock BW, Newland A, Durrant ST, Devereux S, Roitt S, Collins M, Vaugham Hudson G. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after autologous bone marrow transplantation for malignant lymphoma: A British national lymphoma investigation double-blind, placebo-controlled trial. *British Journal of Haematology* 1992;82:317-323.

Kojima S, Tsuchida M, Matsuyama T. Myelodysplasia and leukemia after treatment of aplastic anemia with G-CSF (letter). *New England Journal of Medicine* 1992;326(19):1294-1295.

Kojima S, Matsuyama T. Stimulation of granulocytopoiesis by high-dose recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in children with aplastic leukemia and very severe neutropenia. *Blood* 1994;83(6):1474-1478.

Larson RA, Linker CA, Dodge RK, George SL, Davey FR, Frankel SR, Powell BL, Schiffer CA. Granulocyte-colony stimulating factor (filgrastim;G-CSF) reduces the time to neutrophil recovery in adults with acute lymphoblastic leukemia receiving intensive remission induction chemotherapy:Cancer and leukemia group B study 9911. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology* 1994;13:305.

Lee ME, Crawford J. Delivery of high-dose chemotherapy with recombinant human granulocyte colony stimulating factor support. In: Armitage JO e Antman KH. *High-dose cancer therapy*. 1995 Williams & Wilkins, Baltimore:342-371.

Levi GC, Katz A. The role of G-CSF in zidovudine-induced leukopenia and granulocytopenia in AIDS patients:results of a pilot study. *International Journal of Immunotherapy* 1992;8(4):203-206.

Levine JD, Allan JD, Tessitore JH, Falcone N, Galosso F, Israel RJ, Groopman JE. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor ameliorates zidovudine-induced neutropenia in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) / AIDS-related complex. *Blood* 1991;78(12):3148-3154.

Lieschke GJ, Burgess AW. Granulocyte colony-stimulating factor and Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *New England Journal of Medicine* 1992;327 (1 e 2):28-35 e 99-106.

Link H, Arseniev L, Bähre O, Kadar JG, Diedrich H, Poliwoda H. Transplantation of allogeneic CD 34 + blood cells. *Blood* 1996;87(11):4903-4909.

Link H, Wandt H, Schönrock-Nabulsi P, Ehninger G, Franke A, Gäckle R, Geer T, Strobel G, Linkesch W, Krieger O, Niederwieser D, Nikiforakis E, Öhl S, Otremba B, Pittermann E, Schmidt H, Tischler J, Weib J, Wilhelm M, Badri N. G-CSF (lenograstim) after chemotherapy for acute myeloid leukemia:A placebo controlled trial. *Blood* 1996;88(10):2654.

Liu K, Akashi K, Harada M, Takamatsu Y, Niho Y. Kinetics of circulating haematopoietic progenitors during chemotherapy-induced mobilization with and without granulocyte colony-stimulating factor. *British Journal of Haematology* 1993;84:31-38.

Locatelli F, Pession A, Zecca M, Bonetti F, Prete L, Carrà AM, Prete A, Montagna D, Comoli P, Taibi RM, Paolucci G. Use of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in children given allogeneic bone marrow transplantation for acute or chronic leukemia. *Bone Marrow Transplantation* 1996;17:31-37.

Long GD, Chao NJ, Hu WW, Negrin RS, Wong RM, Blume KG. High dose etoposide-based myeloablative therapy followed by autologous blood progenitor cell rescue in the treatment of multiple myeloma. *Cancer* 1996;78:2502-2509.

Löwenberg B, Suciú S, Archimbaud E, Ossenkoppele G, Verhoef GEG, Vellenga E, Wijermans P, Berneman Z, Dekker AW, Striëckmans P, Schouten H, Jehn U, Muus P, Sonneveld P, Dardenne M, Zittoun R. Use of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor during and after remission induction chemotherapy in patients aged 61 years and older with acute myeloid leukemia (AML): Final report of AML-11, a phase III randomized study of the Leukemia Cooperative Group and European Organisation for the Research and Treatment of Cancer (EORTC - LCG) and the Dutch Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group (HOVON). *Blood* 1997;90(8):2952-2961.

Lyman GH, Lyman CG, Sanderson RA, Balducci L. Decision analysis of hematopoietic growth factor use in patients receiving cancer chemotherapy. *Journal of the National Cancer Institute* 1993;85(6):488-493.

Mahé B, Milpied N, Hermouet S, Robillard N, Moreau P, Letortorec S, Rapp MJ, Bataille R, Harousseau JL. G-CSF alone mobilizes sufficient peripheral blood CD 34 + cells for positive selection in newly diagnosed patients with myeloma and lymphoma. *British Journal of Haematology* 1996;92:263-268.

Maher DW, Lieschke GJ, Green M, Bishop J, Stuart-Harris R, Wolf M, Sheridan WP, Kefford RK, Cebon J, Olver I, McKendrick J, Toner G, Bradstock K, Lieschke M, Cruickshank S, Tomita DK, Hoffmann EW, Fox RM, Morstyn G. Filgrastim in patients with chemotherapy-induced febrile neutropenia. *Annals of Internal Medicine* 1994;121(7):492-501.

Manfredi R, Cariani T, Latini F, Chiodo F. Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of HIV-related neutropenia. *Acta Paediatrica* 1995;84:943-944.

Maslak PG, Weiss MA, Berman E, Yao TJ, Tyson D, Golde DW, Scheinberg DA. Granulocyte colony-stimulating factor following chemotherapy in elderly patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Leukemia* 1996;10:32-39.

Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA, Berg DT, Powell BL, Schulman P, Omura GA, Moore JO, McIntyre OR, Frei III E. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine* 1994;331(14):896-903.

Mayordomo JI, Rivera F, Diaz-Puente MT, Lianes P, Colomer R, López-Brea M, López E, Paz-Ares L, Hitt R, Garcia-Ribas I, Cubelo R, Alonso S, Cortés-Fumes H. Improving treatment of chemotherapy-induced neutropenic fever by administration of colony-stimulating factors. *Journal of the National Cancer Institute* 1995;87(11):803-808.

Mempel K, Pietsch T, Menzel T, Zeidler C, Welte K. Increased serum levels of granulocyte colony-stimulating factor in patients with severe congenital neutropenia. *Blood* 1991;77(9):1919-1922.

Mitchell PLR, Morland B, Stevens MCG, Dick G, Easlea D, Meyer LC, Pinkerton CR. Granulocyte colony-stimulating factor in established febrile neutropenia: A randomized study of pediatric patients. *Journal of Clinical Oncology* 1997;15(3): 1163-1170.

Morstyn G, Souza LM, Keech J, Sheridan W, Campbell L, Alton NK, Green M, Metcalf D, Fox R. Effect of granulocyte colony stimulating factor on neutropenia induced by cytotoxic chemotherapy. *Lancet* 1988;667-671.

Mueller BU, Jacobsen F, Butler KM, Husson RN, Lewis LL, Pizzo PA. Combination treatment with azidothymidine and granulocyte colony-stimulating factor in children with human immunodeficiency virus infection. *The Journal of Pediatrics* 1992;121:797-802.

Nademanee A, Sciecinski I, Schimidt GM, Dagens AC, O'Donnell MR, Snyder DS, Parker PM, Stein AS, Smith EP, Molina A, Stepan DE, Somlo G, Margolin KA, Wood D, Niland JC, Forman SJ. High-dose therapy followed by autologous peripheral-blood stem-cell transplantation for patients with Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma using unprimed and granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral-blood stem cells. *Journal of Clinical Oncology* 1994;12(10): 2176-2186.

Nakajima K, Hatake K, Miyata T, Muroi Z, Komatsu N, Miura Y. Acute promyelocytic leukemia, tretinoin, and granulocyte colony-stimulating factor (letter). *Lancet* 1994;343:173-174.

Nathan FE, Besa EC. GM-CSF and accelerated hemolysis (letter). *New England Journal of Medicine* 1992;326(6):417.

Negrin RS, Stein R, Doherty K, Cornwell J, Vardiman J, Krantz S, Greenberg PL. Maintenance treatment of the anemia of myelodysplasia syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin:evidence for in vitro synergy. *Blood* 1996;87(10):4076-4081.

Nemunaitis J, Singer JW, Buckner CD, Hill R, Storb R, Thomas ED, Appelbaum FR. Use of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in autologous marrow transplantation for lymphoid malignancies. *Blood* 1988;72(2): 834-836.

Nemunaitis J, Rabinowe SN, Singer JW, Bierman PJ, Vose JM, Freedman AS, Onetto N, Gillis S, Oette D, Gold M, Dean Buckner C, Hansen JA, Ritz J, Appelbaum FR, Armitage JO, Nadler LM. Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after autologous bone marrow transplantation for lymphoid cancer. *New England journal of Medicine* 1991;324(25):1773-1778.

Nemunaitis J. Granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor: A review from preclinical development to clinical application. *Transfusion* 1993;33(1):70-83.

Noue H, Shinohara K, Oeda E, Kamei S, Toyosawa M, Ando T, Ariyoshi K. Simultaneous administration of antileukemic agents and granulocyte colony-stimulating factor in the relapsed acute myeloid leukemia, hypoplastic leukemia and myelodysplastic syndrome. *Japanese Archives of Internal Medicine (Haikahokan)* 1995;42(6):83-91.

O'Day SJ, Rabinowe SN, Neuberg D, Freedman AS, Soiffer RJ, Spector NA, Robertson MJ, Anderson K, Whelan M, Pesek K, Ritz J, Nadler LM. A phase II study of continuous infusion recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as an adjunct to autologous bone-marrow transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma in first remission. *Blood* 1994;83(9):2707-2714.

Offner F, Schoch G, Fischer LD, Torok-Storb B, Martin PJ. Mortality hazard functions as related to neutropenia at different times after marrow transplant. *Blood* 1996;88(10):4058-4062.

Ogawa M. Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood* 1993;81(1):2844-2853.

Ogawa M. The role of granulocyte colony-stimulating factor with dose-intensive chemotherapy. *Seminars in Oncology* 1994;21 (1 suppl 1):7-9.

Ohno R, Tomogana M, Kobayashi T, Kanamaru A, Shirakawa S, Masaoka T, Omine M, Oh H, Nomura , Sakai Y, Hirano M, Yokomaku S, Nakayama S, Yoshida Y, Miura AB, Morishima Y, Dohy H, Niho Y, Hamajima N, Takaku F. Effect of granulocyte colony-stimulating factor after intensive induction therapy in relapsed or refractory acute leukemia. *New England Journal of Medicine* 1990;323(13):871-877.

Ohno R. G-CSF in the treatment of acute myeloid leukemia: Is it safe? *Leukemia and Lymphoma* 1993;11 (suppl 2):15-19.

Ohno R, Hiraoka A, Tanikoto M, Asou N, Kuriyama Z, Kobayashi T, Yoshida M, Teshima H, Saito H, Fujimoto K. No increase of leukemia relapse in newly diagnosed patients with acute myeloid leukemia who received granulocyte colony-stimulating factor for life-threatening infection during remission induction and consolidation therapy. *Blood* 1993;81:561-562.

Ohno R, Naoe T, Kanamaru A, Yoshida M, Hiraoka A, Kobayashi T, Ueda T, Minami S, Morishira Y, Saito Y, Furusaka S, Imai K, Takemoto Y, Miura Y, Teshima H, Hamajima N. A double-blind controlled study of granulocyte colony-stimulating factor starting two days before induction chemotherapy in refractory acute myeloid leukemia. *Blood* 1994;83(8):2086-2092.

Ottmann OG, Hoelzer D, Gracien E, Ganser A, Kelly K, Reutzel R, Lipp T, Busch FW, Schwonzen M, Heil G. Concomitant granulocyte colony-stimulating factor and induction chemoradiotherapy in adult acute lymphoblastic leukemia: a randomized phase III trial. *Blood* 1995 Jul;86(2):444-50.

Page B, Morin MP, Mamzer MF, Thervet E, Legrende C. Use of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in leukopenic renal transplant recipients. *Transplantation Proceedings* 1994;26(1):283.

Papamichael D, Andrews T, Owen D, Carter M, Amess J, Lister TA, Rohatiner A. Intensive chemotherapy for adult acute lymphoblastic leukaemia given with or without granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Annals of Hematology* 1996;73:259-263.

Pauksen K, Elfman L, Ulfgren A, Venge P. Serum levels of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) in bacterial and viral infections, and in atypical pneumonia. *British Journal of Haematology* 1994;88:256-260.

Paydas S, Sahin B, Seyrek E, Soylu M, Gonlusen G, Acar A, Tuncer I. Sweet's syndrome associated with G-CSF. *British Journal of Haematology* 1993;85:191-192.

Peters WP, Rosner G, Ross M, Vredenburgh J, Meisenberg B, Gilbert C, Kurtzberg J. Comparative effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on priming peripheral blood progenitor cells for use with autologous bone marrow after high-dose chemotherapy. *Blood* 1993;81(7):1709-1719.

Pettengell R, Gurney H, Radford JA, Deakin DP, James R, Wilkinson PM, Kane K, Bentley J, Crowther D. Granulocyte colony-stimulating factor to prevent dose-limiting neutropenia in non-Hodgkin's lymphoma: A randomized controlled trial. *Blood* 1992;80(6):1430-1436.

Pierelli L, Scambia G, Menichella G, D'Onofrio G, Salerno G, Panici PB, Foddai ML, Vittori M, Lai M, Ciarli M, Puglia G, Mancuso S, Bizzi B. The combination of erythropoietin and granulocyte colony-stimulating factor increase the rate of haematopoietic recovery with clinical benefit after peripheral blood progenitor cell transplantation. *British journal of Haematology* 1996;92:287-294.

Pizzo PA. Management of fever in patients with cancer and treatment-induced neutropenia. *New England journal of Medicine* 1993;328(18):1323-1332.

Pizzo PA. Granulocytopenia and cancer therapy. *Cancer* 1984;54:2649-2661.

Powles R, Smith C, Milan S, Treleaven J, Millar J, McElwain T, Gordon-Smith E, Milliken S, Tiley C. Human recombinant GM-CSF in allogeneic bone-marrow transplantation for leukaemia: double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 1990; 336:1417-1420.

Preti A, Kantarjian HM. Management of adult acute lymphoblastic leukemia: Present issues and key challenges. *Journal of Clinical Oncology* 1994;12(6):1312-1322.

Rabinowe SN, Neuberg D, Bierman PJ, Vose JM, Nemunaitis J, Singer JW, Freedman AS, Mauch P, Demetri G, Onetto N, Gillis S, Oette D, Dean Buckner C, Hansen JA, Ritz J, Armitage JO, Nadler LM, Appelbaum FR. Long-term follow-up of a phase III study of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after autologous bone marrow transplantation for lymphoid malignancies. *Blood* 1993;81(7):1903-1908.

Rahman Z, Esparta-Guerra L, Yap H, Frascini G, Bodey G, Hortobagyi G. Chemotherapy-induced neutropenia and fever in patients with metastatic breast carcinoma receiving salvage chemotherapy. *Cancer* 1997. 79(6);1150-1156.

Reisbach G, Kamp T, Welzl G, Giez C, Abedinpour F, Lodri A, Kaboth W, Dörmer P, Nerl C. Regulated plasma levels of colony-stimulating factors, interleukin-6 and interleukin-10 in patients with acute leukaemia and non-Hodgkin's lymphoma undergoing cytoreductive chemotherapy. *British journal of Haematology* 1996;92:907-912.

Riikonen P, Saarinen UM, Mäkipernaa A, Hovi L, Komulainen A, Pihkala J, Jalanko H. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of febrile neutropenia; a double blind placebo-controlled study in children. *Pediatric Infection Disease Journal* 1994;13:197-202.

Rivera GK, Pinkel D, Simone JV, Hancock MS, Crist WM. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine* 1993;329(18):1289-1295.

Roberts AW, Metcalf D. Noncycling state of peripheral blood progenitor cells mobilized by granulocyte colony-stimulating factor and other cytokines. *Blood* 1995;86(4):1600-1605.

Rose C, Wattel E, Bastion Y, Berger E, Bauters F, Coiffier B, Fenaux P. Treatment with very low-dose GM-CSF in myelodysplastic syndromes with neutropenia. A report on 28 cases. *Leukemia* 1994;8(9):1458-1462.

Rosenthal J, Healey T, Ellis R, Gillan E, Cairo MS. A two-year follow-up of neonates with presumed sepsis treated with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor during the first week of life. *The Journal of Pediatrics* 1996;128:135-137.

Rowe JM, Andersen JW, Mazza JJ, Bennett JM, Paietta E, Hayes FA, Oette D, Cassileth PA, Stadtmauer EA, Wiernik PH. A randomized placebo-controlled phase III study of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adult patients (> 55 to 70 years of age) with acute myelogenous leukemia: a study of the Eastern Cooperative Oncology Group (E1490). *Blood* 1995 Jul;86(2):457-62.

Ruiz-Irastorza G, Alonso JJ, Iglesias JJ, Aguirre C. Granulocyte colony-stimulating factor for neutropenia secondary to ticlopidine. *Acta Haematologica* 1994;91:106-107.

Russel ARB, Davies EG, Ball SE, Gordon-Smith E. Granulocyte colony stimulating factor treatment for neonatal neutropenia. *Archives of Disease in Childhood* 1995;72:f53-f54

Sakamaki S, Matsunaga T, Hirayama Y, Kuga T, Niitsu Y. Haematological study of healthy volunteers 5 years after G-CSF (letter). *Lancet* 1995;346:1432-1433.

Sallan SE, Cohen HJ. Therapy for acute lymphocytic leukemia in children. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE. *Hematology – basic principles and practice*. Segunda edição. Editora Churchill Livingstone 1995.

Scadden DT. The clinical applications of colony-stimulating factors in acquired immunodeficiency syndrome. *Seminars in Hematology* 1992;29 (4 suppl 3):33-37.

Scarffe JH. Emerging clinical uses for GM-CSF. *European Journal of Cancer* 1991;27(11):1493-1504.

Scheding S, Brugger W, Mertelsmann RH, Kanz L. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor. In: Armitage JO e Antman KH. High-dose cancer therapy. 1995 Willians & Wilkins, Baltimore:319-341.

Schiffer CA. Hermatopoietic growth factors as adjuvant to the treatment of acute myeloid leukemia. *Blood* 1996;88(10):3675-3685.

Schmitz N, Linch DC, Dreger P, Goldstone AH, Boogaerts MA, Ferrant A, Demuyneck HMS, Link H, Zander A, Barge A, Borkett K. Randomized trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients. *Lancet* 1996;347:353-357.

Schmitz S, Franke H, Loeffler M, Wichmann HE, Diehl V. Model analysis of the contrasting effects of GM-CSF and G-CSF treatment on peripheral blood neutrophils observed in three patients with childhood-onset cyclic-neutropenia. *British Journal of Haematology* 1996;95:616-625.

Schultz AB, Geller RB, Hillyer CD. The role of bone marrow transplantation in the treatment of myelodysplastic syndromes. *Journal of Hematotherapy* 1995;4:323-334.

Sica S, Di Mario A, Salutari P, Etuk B, Jovino MS, Pierelli L, Marra R, Teofili L, Meninchella G, D'Onofrio G, Leone G. Sequential peripheral blood progenitor cell transplantation after mobilization with salvage chemotherapy and G-CSF in patients with resistant lymphoma. *American Journal of Hematology* 1994;46:18-23.

Sloas M, Rubin M, Walsh TJ, Pizzo PA. Clinical approach to infections in the compromised host. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE. Hematology – basic principles and practice. Segunda edição. Editora Churchill Livingstone 1995.

Somlo G, Sniecinski I, Odom-Maryon T, Chow W, Nowicki B, Hamasaki V, Leong L, Margolin K, Morgan Jr R, Raschko J, Shibata S, Tetef M, Molina A, Berenson RJ, Forman SJ, Doroshow JH. Effect of CD34+ selection and various schedules of stem cell reinfusion and granulocyte colony-stimulating factor priming on hematopoietic recovery after high-dose chemotherapy for breast cancer. *Blood* 1997;89(5):1521-1528.

Spitzer G, Adkins DR, Spencer V, Dunphy FR, Petruska PJ, Velasquez WS, Bowers CE, Kronmueller N, Niemeyer R, McIntyre W. Randomized study of growth factors post-peripheral-blood stem-cell transplant: neutrophil recovery is improved with modest clinical benefit. *Journal of Clinical Oncology* 1994;12(4):661-670.

Stahel RA, Jost LM, Cerny T, Pichert G, Honegger H, Tobler A, Jacky E, Fey M, Platzer E. Randomized study of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation for high-risk lymphoid malignancies. *Journal of Clinical Oncology* 1994;12(9):1931-1938.

Steward WP. Granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Lancet* 1993;342:153-157.

Stone RM, Berg DT, George SL, Dodge RK, Paciucci PA, Schulman P, Lee EJ, Moore JO, Powell BL, Schiffer CA. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after initial chemotherapy for elderly patients with primary acute myelogenous leukemia. *New England Journal of Medicine* 1995;332(25):1671-1677.

Stute N, Santana VM, Rodman JH, Schell MJ, Ihle JN, Evans WE. Pharmacokinetics of subcutaneous recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in children. *Blood* 1992;79(11):2849-2854.

Tabbara IA. Granulocyte colony-stimulating factor. *Southern Medical Journal* 1993;86(3):350-355.

Tajima A, Aso Y, Kawabe K, Suzuki K, Othawara Y, Ohta N, Hata M, Nakano M, Ushiyama T, Ueda D. Colony-stimulating factor for treatment of leukopenia after kidney allografting. *Transplantation Proceedings* 1991;23(1):1369-1370.

Tanaka J, Imamura M, Asaka M, Kasai M. Clinical applications of allogeneic peripheral blood stem cells transplantation. *Annals of Hematology* 1995;71(6):265-269.

Teshima T, Harada M, Takamatsu Y, Makino K, Inaba S, Akashi K, Kondo S, Tanaka T, Ishii E, Niho Y. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)-induced mobilization of circulating haemopoietic stem cells. *British Journal of Haematology* 1993;84:570-573.

Triller-Lenoir V, Green J, Menegold C, Von Pawel J, Gatzemeier U, Lebeau B, Depierre A, Johnson P, Decoster G, Tomita D, Ewen C. Recombinant granulocyte colony stimulating factor reduces the infectious complications of cytotoxic chemotherapy. *European Journal of Cancer* 1993;29a (3):319-324.

Tsuda H, Shirono K. Successful treatment of virus-associated haemophagocytic syndrome in adults by ciclosporin A supported by granulocyte colony-stimulating factor. *British Journal of Haematology* 1996;93:572-575.

Usuki K, Ikeda Y, Kitazume K, Iwabe K, Okuyama Y, Urabe A. Filgrastim combined with tretinoin in acute promyelocytic leukaemia (letter). *Lancet* 1994;343:803-804.

Uyl-de-Groot CA, Vellenga E, Ritten FFH. An economic model to assess the savings from a clinical application of haematopoietic growth factors. *European Journal of Cancer* 1996;32a (1):57-62.

Vadhan-Raj S, Broxheimer HE, Hittelman WN. Use of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in hematopoietic disorders: Biology and nature of response. *Seminars in Hematology* 1992;29 (4 suppl 3):4-13.

Vellenga E, Young DC, Wagner K, Wiper D, Ostapovicz D, Griffin JD. The effects of GM-CSF and G-CSF in prototyping growth of clonogenic cells in acute myeloblastic leukemia. *Blood* 1987;69(6):1771-1776.

Vellenga E, Uyl-de-Groot CA, De Wit R, Keizer HJ, Löwenberg B, Tem Haaft MA, De Witte TJM, Verhagen CAH, Stoter GJ, Rutten FFH, Mulder NH, Smid WM, De Vries EGE. Randomized placebo-controlled trial of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with chemotherapy-related febrile neutropenia. *Journal of Clinical Oncology* 1996;14 (2):619-627.

Viana MB, Murao M, Ramos G, Oliveira HM, Carvalho RI, Bastos M, Colosimo EA, Silvestrini WS. Malnutrition as a prognostic factor in lymphoblastic leukaemia: a multivariate analysis. *Archives of Disease in Childhood* 1994;71:304-310 .

Visani G, Tosi P, Zinzani PL, Manfroi S, Ottaviani E, Testoni N, Clavio M, Cenacchi A, Gamberi B, Carrara P, Gobbi M, Tura S. FLAG (fludarabine + high-dose cytarabine + G-CSF): an effective and tolerable protocol for the treatment of poor risk acute myeloid leukemias. *Leukemia* 1994;8(11):1842-1846.

Vogler WR, McCarley DL, Stagg M, Bartolucci AA, Moore J, Martelo O, Omura GA. A phase III trial of high-dose cytosine arabinoside with or without etoposide in relapsed and refractory acute myelogenous leukemia. *Leukemia* 1994;8(11):1847-1853.

Webb IJ, Eickhoff CE, Elias AD, Ayash LJ, Wheeler CA, Schwartz GN, Demetri GD, Anderson KC. Kinetics of peripheral blood mononuclear cell mobilization with chemotherapy and/or granulocyte colony-stimulating factor: implications for timing and yield of hematopoietic progenitor cell collections. *Transfusion* 1996;36:160-167.

Weick JK, Kopecky KJ, Appelbaum FR, Head DR, Kingsbury LL, Balcerzak SP, Bickers JN, Hynes HE, Welborn JL, Simon SR, Grever M. A randomized investigation of high-dose versus standard-dose cytosine arabinoside with daunorubicin in patients with previously untreated acute myeloid leukemia: A southwest oncology group study. *Blood* 1996;88(8):2841-2851.

Wells RJ, Gold SH, Krill CE, Cornelius AS, Byrd RL, Ruymann FB, Feusner J, White ML, Cairo MS. Cytosine arabinoside and mitoxantrone induction chemotherapy followed by bone marrow transplantation or chemotherapy for relapsed or refractory pediatric acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1994;8(10):1626-1630.

Welte K, Gabrilove J, Bronchud MH, Platzer E, Morstyn G. Filgrastim (r-metHuG-CSF): The first 10 years. *Blood* 1996;88(6):1907-1929.

Welte K, Reiter A, Mempel K, Pfetsch M, Schwab G, Schrappe M, Hansjörg R. A randomized phase-III study of the efficacy of granulocyte colony-stimulating factor in children with high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996;87(8):3143-3150.

Wexler LH, Weaver-McClure L, Steinberg SM, Jacobson J, Jarosinski P, Avila N, Pizzo PA, Horowitz ME. Randomized trial of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in pediatric patients receiving intensive myelosuppressive chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology* 1996;14(3):901-910.

Witz F, Harousseau JL, Sadoun A, Guyotat D, Berthou C, Cahn JY, Gardin C, Lioure B, Witz B, Desablens B, Ifrah N, Pignon B, Leprise PY, Audhuy B, Caillot D, Casassus P, Linassier P, Christian B, Hurteloup P, Polin V, Tellier Z. GM-CSF during and after remission induction treatment for elderly patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 1995;86 (suppl):2036.

Wörmann B, Reuter C, Zühlendorf M, Büchner T, Hiddemann W. Experimental basis for the use of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with acute myeloid leukemia. *Seminars in Oncology* 1994;21(6 suppl 16):39-43.

Xu S, Höglund M, Venge P. The effect of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on the degranulation of secondary granule proteins from human neutrophils in vivo may be indirect. *British Journal of Haematology* 1996;93:558-568.

Yamada K, Furusawa S, Saito K, Waga K, Koike T, Arimura H, Aoyagi A, Yamato H, Sakuma H, Tsunogake S, Yoshida M, Aoyagi M, Nakamura Y, Enokihara H, Tanaka K, Nakazawa K, Shishido H. Concurrent use of granulocyte colony-stimulating factor with low-dose cytosine arabinoside and aclarubicin for previously treated acute myelogenous leukemia: a pilot study. *Leukemia* 1995;9:10-14.

Yanagisawa K, Yano A, Takaa K, Yasukawa M, Fujita S. Increase of erythropoiesis and thrombopoiesis and induction of remission by granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in a patient with hypoplastic leukemia (letter). *Leukemia* 1994, 8(7):1249-1251.

Yasui K, Tsuno T, Miyabayashi M, Yamazaki M, Komiyama A. Effects of high-dose granulocyte colony-stimulating factor on neutrophil functions. *British Journal of Haematology* 1996;92:571-573.

Yin JAL. The role of Granulocyte – and Granulocyte-macrophage-colony-stimulating factors in the treatment of acute myeloid leukaemia. *British Journal of Haematology* 1997;97:1-8.

Yoshida Y, Hirashima K, Asano S, Takaku F. A phase II trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in the myelodysplastic syndromes. *British Journal of Haematology* 1991;78:378-384.

Young NS. Agranulocytosis. *JAMA* 1994;271(12):935-938.

Zinzani PL, Pavone E, Storti S, Moretti L, Fattori PP, Guardigni L, Falini B, Gobbi M, Gentilini P, Lauta VM, Bendandi M, Gherlinzoni F, Magagnoli M, Venturi S, Aitini E, Tabanelli M, Leone G, Liso V, Tura S. Randomized trial with or without granulocyte colony-stimulating factor as adjunct to induction VNCOP-B treatment of elderly high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997 Jun;89(11):3974-9.

Zittoun R, Mandelli F, Willemze R, De Witte T, Labar B, Resegtti L, Leoni F, Damasio E, Visani G, Papa G, Caronia F, Hayat M, Stryckmans P, Rotoli B, Leoni P, Peetermans ME, Dardenne M, Vegna ML, Petti MC, Solbu G, Siciu S. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *New England Journal of Medicine* 1995;332(4):217-223.

Zittoun R, Siciu S, Mandelli F, De Witte T, Thaler J, Stryckmans P, Hayat M, Peetermans M, Cadiou M, Solbu G, Petti MC, Willenze R. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor associated with induction treatment of acute myelogenous leukemia: A randomized trial by the European Organization for Research and Treatment of Cancer Leukemia Cooperative Group. *Journal of Clinical Oncology* 1996;14 (7):2150-2159.