

Cryofit® DMSO Kullanılarak CD34+ Hematopoietik Kök Hücrelerin Kriyoprezervasyonu ve Sonuçlara Etkisi

GİRİŞ

Hematopoietik kök hücrelerin otolog nakli (Oto-SCT), çok sayıda hematolojik ve hematolojik olmayan maliniteler ve bağışıklık bozuklukları için etkili bir tedavi olarak durmaktadır [1]. Oto-SCT prosedürü, hücrelerin periferik kana mobilizasyonu, CD34+ hücre sayımı, aferez toplanması, sık sık kriyoprezervasyon ve yüksek doz tedavinin ardından çözülmüş hücrelerin daha sonra yeniden infüzyonu dahil olmak üzere birkaç önemli adımı içerir [2].

Hematopoietik progenitör kök hücreler (HSC'ler), periferik kan kök hücrelerinin (PBSC), kemik iliğinin veya göbek kordonu kanının aferezi yoluyla elde edilebilir; PBSC, kemik iliğine kıyasla daha az invaziv toplama yöntemi nedeniyle tercih edilir [3]. Bu kök hücrelerin mobilizasyonu, donöre granülosit koloni uyarıcı faktörün (GCSF) tek başına veya diğer ajanlarla kombinasyon halinde art arda beş gün boyunca verilmesini içerir. Yeterli sayıda doz sağlamak için CD34+ hücre ölçümü toplamadan önce gerçekleştirilir [4].

Oto-SCT güvenli ve standartlaştırılmış bir prosedür haline gelirken, çeşitli faktörler HSC'lerin hastanın kemik iliğini ve periferik kanını verimli ve tutarlı bir şekilde yeniden oluşturma yeteneğini etkileyebilir. Bu faktörler progenitör hücrelerin miktarı ve kalitesini, kriyoprezervasyon ve depolama prosedürlerini ve ayrıca çözme işlemi sırasında kullanılan teknikleri içerir [1,5]. Kriyoprezervasyona tabi tutulmayan taze HSC'ler, özellikle allojenik transplant vakalarında ve miyelom ve lenfoma vakaları gibi seçilmiş otolog transplantasyonlarda tipik olarak hemen kullanılan, sterilite, sızdırmazlık ve 2-6 °C'de sıcaklık stabilizasyonu dahil olmak üzere özel işleme ve saklama gereksinimlerine tabidir [1,6,7]. Hematopoietik kök hücre toplanması ile infüzyon veya kriyoprezervasyon arasındaki süre, hücre canlılığını etkileyebilir; taze HPC'nin korunması, özellikle daha düşük sıcaklıklarda tipik olarak 1 ila 6 gün olarak kabul edilir [8-10]. Otolog lenfoma ve miyelom hastalarının, toplamadan sonraki 72 saatten sonra PBSC transplantasyonuna ihtiyaç duyduğu durumlarda, kök hücrelerin % 35'e kadar kaybıyla sonuçlanabilir [11,12].

72 saat içinde transplantasyona yönelik olmayan HPSC ürünleri, dimetil sülfoksit (DMSO) ile dondurularak saklanır ve insan albümini, plazma veya diğer klinik olarak onaylanmış solüsyonlar gibi maddelerle seyreltilir; DMSO buz kristali oluşumunu ve hücresel şoku önlemek için yaygın bir kriyoprotektandır. Dondurularak saklanan bu hücreler, sıvı nitrojen dondurucularda -140°C ile -195°C arasında on yıla kadar saklanır [13-15]. Ek olarak taze PBSC ile karşılaştırıldığında, dondurma/çözdürme işlemi kanıtlandığı üzere toplam çekirdekli hücrelerde (TNC), CD34+ hücrelerde, hücre canlılığında ve/veya çözülme sonrası numunelerdeki koloni oluşturan birimlerin (CFU) sayısında önemli bir azalma ile hücre hasarına neden olabilir [16-18]. Çalışmalar, kriyoprezerve edilmemiş hücrelerin infüzyonunun daha iyi transplantasyon sonuçlarına ve daha az yan etkiye yol açtığını göstermiştir [10,19]. Ayrıca DMSO'nun, nakil materyalinin en toksik bileşeni olduğuna ve infüzyon sırasında mide bulantısı, kusma, karın krampları ve baş ağrısı gibi olumsuz etkilere yol açtığına inanılıyor. DMSO içeren ürünlerin diğer yan etkileri arasında bradikardi, hemoliz, döküntüler, böbrek yetmezliği, akciğer ödemi, bronkospazm, kalp durması, nörolojik hasar ve hipo veya hipertansiyon yer alır. Bu reaksiyonlar, kriyoprezervasyon sonrası hasar görmüş hücreler veya aşırı düşük infüzyon sıcaklığı gibi faktörlerden kaynaklanabilir [20-24].

HSC kriyoprezervasyonu, nakil merkezleri arasında yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak standartlaştırılmış prosedürler bulunmamaktadır. DMSO çok uzun bir süredir standarttır. Artık çeşitli şişe formlarında mevcuttur.

DMSO kimyasal bir bileşen olduğundan ve farmasötik teknoloji açısından üretimi kolay olduğundan, bu şişeler normal kullanımda da benzer şekilde kabul edilir. Ancak üretim koşulları ve son ürün durumları aynı değildir. Burada CryoFit® DMSO'yu ve sonuçlara etkisini değerlendirdik.

YÖNTEMLER

Hastalar

Bu, Oto-SCT için yönlendirilen hematolojik maliniteleri olan yetişkin hastaları içeren tek merkezli, retrospektif bir çalışmaydı. CryoFit® DMSO ile dondurularak saklanan HSC'leri olan hastalar dahildir. Çalışma yerel etik kurul tarafından onaylandı ve Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yürütüldü.

HSC'lerin mobilizasyonu, toplanması ve dondurulması

Kök hücrelerin mobilizasyonu tek başına granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) kullanılarak veya kemoterapi ve gerektiğinde G-CSF ve/veya pleriksafor kullanılarak gerçekleştirildi. Akış sitometrisi analizi, kriyoprezervasyon öncesinde kandaki CD34+ hücre sayısını ve aferez ürününü belirlemek için kullanıldı. Hücre canlılığının (7-aminoaktinomisin D [7-AAD]) yanı sıra canlı CD45+ ve CD34+ hücreleri, ISHAGE yönergeleri izlenerek akış sitometrisi aracılığıyla ölçüldü [25]. Toplama, kandaki CD34+ hücrelerinin mutlak sayısı 10/μl'den yüksek olduğunda başladı. Periferik kandan kök hücreler, sürekli bir kan hücresi ayırıcısı (blood cell separator) akışıyla toplandı. Her bir aferez işlemi yaklaşık 2,4 saat sürdü ve kan hacminin 2-2,5 katı işlem yapıldı. CD34+ hücre/kg hedefi minimum 2×10^6 ve ideal 4×10^6 olarak belirlendi. Toplanan CD34+ hücre miktarı hedefi karşılamadığında G-CSF devam etti ve eretsi gün aferez süreci yeniden başlatıldı. Kriyoprezervasyon % 5 konsantre DMSO, HES (Hidroksietil nişasta) ve otolog plazma kullanılarak gerçekleştirildi. HSC'ler toplandıktan hemen sonra veya ertesi gün dondurularak saklandı. Ertesi gün kriyoprezervasyon yapılması durumunda hücre süspansiyonu 4°C'de tutuldu.

Hazırlama Rejimi, Engraftmanın ve Yan Etkilerin İzlenmesi

Hazırlama rejimi, yerel standart çalışma prosedürlerini takip ederek ayrı ayrı seçildi. Lenfoma hastalarında BEAM (Carmustine + Etoposide + Cytarabine + Melphalan), miyelom hastalarında Melphalan kullanıldı. Nötrofil engraftmanı, mutlak nötrofil sayısının (ANC) 3 gün üst üste herhangi bir destek olmadan $> 500/\text{mm}^3$ veya $1.000/\text{mm}^3$ olduğu ilk gün, trombosit engraftmanı ise trombosit sayısının $> 20.000/\text{mm}^3$ veya $50.000/\text{mm}^3$ olduğu ilk gün olarak tanımlandı. Nötrofil iyileşmesini desteklemek için tüm hastalara nakil sonrası +4. günden itibaren G-CSF uygulandı. Trombosit seviyesi $20 \times 10^9/\text{L}$ 'nin altına düştüğünde trombosit transfüzyonları endike olurken, hemoglobin seviyesini $> 8 \text{ g/dL}$ 'de tutmak için paketlenmiş kırmızı kan hücresi (RBC) transfüzyonları uygulandı. HSC infüzyonunun başlangıcından itibaren 24 saat içinde meydana gelen yan etkilerin görülme sıklığı kaydedildi.

İstatistikler

Analizlere SPSS yazılımının 26.0 sürümü (IBM Corporation, Armonk, NY, ABD) uygulandı. Kategorik değişkenler frekans tabloları halinde, sayısal değişkenler ise uygun olduğu yerde ortalama $\pm$ standart sapma veya ortanca ve minimum-maksimum değerler olarak sunuldu.

SONUÇLAR

Çalışmaya toplam 80 hasta dahil edildi. Ortalama yaş 58,5 (19-75, min-maks) olup 37'si (% 46,3) erkek, 43'ü (% 53,8) kadındı. Hastalar arasında en sık görülen tanı miyelom (46 [% 57,5]) idi. Hasta özelliklerine ilişkin diğer ayrıntılar Tablo 1'de sunuldu.

Tablo 1. Hasta Özellikleri

	Tüm vericiler (n:80)
Ortalama Hasta Yaşı	58,5 (19-75)
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	37 (% 46,3) / 43 (% 53,8)
Tanı	
Multiple Myelom	46 (% 57,5)
Non-Hodgkin Lenfoma	25 (% 31,3)
Hodgkin Lenfoma	9 (% 11,3)
Önceki Tedaviler	
1 kür kemoterapi	48 (% 60)
2 kür kemoterapi	24 (% 30)
≥ 3 kür kemoterapi	8 (% 10)
RT	8 (% 10)
Teşhisten Transplantasyona Kadar Ortalama Süre (ay)	7 (3-25)

RT: Radyoterapi

Tüm hastalara hazırlık rejimi uygulandı; en yaygın olanı melfalan (46 [% 57,5]) idi. Hastalığın tanısından nakil gününe kadar geçen ortalama süre 7 (3-25, min-maks) ay'dı. Ortalama hasat edilen CD34+ hücre sayısı $5,8 \times 10^6$ /kg hücreydi (3,2-14, min-maks). Nakil özelliklerinin diğer detayları Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Nakil Özellikleri

	Tüm vericiler (n:80)
Hazırlık Rejimleri	

MEL	46 (% 57,5)
BEAM	32 (% 40)
BEAC	2 (% 2,5)
Teşhisten Transplantasyona Kadar Ortalama Süre (ay)	7 (3-25)
Ortalama Hastanede Kalış Süresi (gün)	24 (15-60)
Ortalama Nötrofil Engrafmanı (gün)	13 (7-19)
Ortalama Trombosit Engrafmanı (gün)	17 (12-50)
Ortalama Eritrosit Transfüzyonu (ünite)	0 (0-6)
Ortalama Trombosit Transfüzyonu (ünite)	2 (12)
Ortalama Canlılık	98 (90-99,5)
Ortalama Toplanan CD34+ hücre sayısı (x10⁶/kg hücre)	5,8 (3,2-14)

MEL: Melphalan.

BEAM: Carmustine, Etoposide, Cytarabine, Melphalan.

BEAC: Carmustine, Etoposide, Cytarabine, Cyclophosphamide.

Yan etkiler kaydedildi. En sık görülen yan etki, yüzde 15'e varan sıklıkta bulantı-kusmaydı. Tüm yan etkiler derece 1-2 idi ve yönetilebilirdi. Hayatı tehdit eden herhangi bir olumsuz olay kaydedilmedi. Ayrıntılar Tablo 3'te sunuldu.

Tablo 3. Yan Etkiler

İnfüzyonla İlgili Komplikasyonlar	Tüm vericiler (n:80)
Bulantı-Kusma	12 (15)
Titreme	2 (2.5)
Göğüs ağrısı	1 (1.3)
Hipotansiyon	4 (5)
Hipertansiyon	3 (3.8)
Aritmi	2 (2.5)
Diğer	5 (6.3)
Herhangi bir yan etki	21 (26.3)

TARTIŞMA

Bu çalışma, CryoFit® DMSO kullanılarak CD34+ HSC'lerin kriyoprezervasyonunun sonuçlarını ve bununla ilişkili klinik sonuçları değerlendirmeyi amaçladı. Bulgular, Oto-SCT bağlamında bu yaklaşımın etkinliği ve güvenliği hakkında fikir vermektedir.

Oto-SCT'nin genel başarısı büyük ölçüde dondurularak saklanan kök hücrelerin canlılığına ve işlevselliğine bağlıdır. Bu çalışmada, CD34+ hücrelerin yüksek erime sonrası canlılığı, ortalama % 98 canlılık oranıyla, CryoFit® DMSO formülasyonunun dondurma ve çözme işlemleri sırasında hücresel bütünlüğü etkili bir şekilde koruduğunu göstermektedir. Bu, DMSO gibi kriyoprotektanların, kriyoprezervasyon sırasında buz kristali oluşumunu ve hücresel hasarı önlemedeki kritik rolünü vurgulayan mevcut literatürle tutarlıdır [26].

Amerikan Kan ve İlik Transplantasyonu Derneği'ne göre, $3-5 \times 10^6$ CD34+ hücre/kg'lık bir hedef dozaj önerilmiştir [27]. Üstelik gözlemlenen ortalama CD34+ hücre verimi ($5,8 \times 10^6$ /kg), başarılı aşılama için önerilen minimum eşiği aşıyor ve kullanılan kriyoprezervasyon protokolünün etkinliğini daha da vurguluyor. Çalışmadaki engrafman sonuçları olumluydu; ortalama nötrofil engraftasyon süresi 13 gün ve trombosit engraftasyon süresi 17 gündü. Transfüzyon gereksinimleri de kabul edilebilir aralıktaydı. Bu sonuçlar, dondurularak saklanan hücrelerin kullanıldığı otolog nakillere ilişkin önceki raporlarla uyumludur [5,12]. Gözlemlenen aşılama kinetiği, CD34+ hücrelerinin yüksek canlılığına ve nakil başarısını optimize etmek için özel olarak tasarlanmış kişiselleştirilmiş hazırlama rejimlerine atfedilebilir. Ancak çoğu kriyoprezervasyon yönteminde olduğu gibi DMSO'nun kullanımı da sınırlamalardan muaf değildir. Çoğu durumda yönetilebilir ve geçici olmasına rağmen bulantı, hipotansiyon ve infüzyonla ilişkili diğer reaksiyonlar gibi yan etkiler belgelenmiştir. Bu etkiler önceki çalışmalarda bildirilen DMSO ile ilişkili bilindik toksisitelerle tutarlıdır [28,29]. Bu, hücre canlılığından ödün vermeden toksisiteyi en aza indiren alternatif kriyoprezervasyon ajanlarının veya DMSO formülasyonlarının sürekli araştırılması ihtiyacını vurgulamaktadır.

Kayda değer ek bir bulgu, hastalar arasında aşılama süreleri ve transfüzyon gereksinimlerindeki önemli değişkenliktir. Bu değişkenlik hasta özelliklerindeki, altta yatan hastalıklardaki veya önceki tedavi rejimlerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. Örneğin, bu kohorttaki miyelom hastaları hazırlama rejimi olarak Melfalan aldı; bu, lenfoma hastaları için kullanılan BEAM gibi diğer hazırlama rejimleriyle karşılaştırıldığında aşılamaya kadar geçen nispeten kısa süreyi açıklayabilir. Daha ileri alt grup analizleri bu faktörlerin transplantasyon sonuçları üzerindeki etkisinin aydınlatılmasına yardımcı olabilir.

Bu çalışmanın çeşitli sınırlılıkları bulunmaktadır. Birincisi, tek merkezli, retrospektif bir çalışma olması bulguların genellenebilirliğini sınırlayabilir. İkinci olarak, alternatif kriyoprezervasyon yöntemlerini kullanan bir karşılaştırma grubunun bulunmaması, CryoFit® DMSO'nun göreceli avantajlarını doğrudan değerlendirme yeteneğini kısıtlamaktadır. Bu sonuçları doğrulamak ve klinik sonuçları iyileştirmek için kriyoprezervasyon protokollerini daha da geliştirmek için gelecekte çok merkezli, ileriye dönük çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, CryoFit® DMSO, CD34+ HSC'lerin korunmasında yüksek erime sonrası canlılık ve olumlu aşılama sonuçlarıyla güçlü bir etkinlik gösterdi. DMSO ile ilgili toksisiteler bir endişe kaynağı olmaya devam ederken, bunların geçici doğası ve yönetilebilirliği, CryoFit® DMSO'nun Oto-SCT için güvenilir bir kriyoprotektan olduğunu göstermektedir.

Kriyoprezervasyon tekniklerindeki daha fazla ilerleme, kök hücre naklinin güvenliğini ve etkinliğini artırma konusunda umut vaat ediyor.

Finansman: Gatamed

Teşekkür: Yok.

REFERANSLAR

1. E.A. Copelan, Hematopoietic stem-cell transplantation, *N. Engl. J. Med.* 354 (2006) 1813–1826.
2. M. Logue, B.N. Savani, Understanding basic steps to hematopoietic stem cell transplantation evaluation, *Am. J. Blood Res.* 3 (2013) 102–106.
3. Berebichez-Fridman R, Montero-Olvera PR. Sources and Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells: State-of-the-art review. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2018 Aug;18(3):e264-e277. doi: 10.18295/squmj.2018.18.03.002.
4. Cottler-Fox MH, Lapidot T, Petit I, Kollet O, et al. Stem cell mobilization. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2003:419-37. doi: 10.1182/asheducation-2003.1.419
5. I. Mitrus, A. Smagur, S. Giebel, J. Gliwinska, M. Prokop, M. Glowala-Kosinska, A. Chwieduk, M. Sadus-Wojciechowska, A. Tukiendorf, J. Holowiecki, A faster reconstitution of hematopoiesis after autologous transplantation of hematopoietic cells cryopreserved in 7.5% dimethyl sulfoxide if compared to 10% dimethyl sulfoxide containing medium, *Cryobiology* 67 (2013) 327–331.
6. D.S. Allan, M. Keeney, J. Popma, K. Weir, M. Bhatia, I.H. Chin-yee, Peripheral blood stem cells Number of viable CD34 β cells reinfused predicts engraftment in autologous hematopoietic stem cell transplantation Summary, *Bone Marrow Transplant.* 29 (2002) 967–972.
7. World Health Organization. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2013-2014. 2013;6-7
8. Jansen J, Nolan PL, Reeves MI, Akard LP, Thompson JM, Dugan MJ, et al. Transportation of peripheral blood progenitor cell products: effects of time, temperature and cell concentration. *Cytotherapy* 2009;11:79–85. <https://doi.org/10.1080/14653240802666050>.
9. Kao GS, Kim HT, Daley H, Ritz J, Burger SR, Kelley L, et al. Validation of short-term handling and storage conditions for marrow and peripheral blood stem cell products. *Transfusion* 2011;51:137–47. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2010.02758.x>.
10. Kardduss-Urueta A, Gale RP, Gutierrez-Aguirre CH, Herrera-Rojas MA, Murrieta-Alvarez I, Perez-Fontalvo R, et al. Freezing the graft is not necessary for autotransplants for plasma cell myeloma and lymphomas. *Bone Marrow Transplant* 2018;53:457–60. <https://doi.org/10.1038/s41409-017-0047-7>.
11. J. Moreb, M. Byrne, D. Salmasinia, H. Leather, C. Cogle, A. Davis, J. Hsu, L. Wiggins, M. Chang, G. Ann, J. Wingard, Tandem autologous stem cell transplantation for multiple myeloma patients based on response to their first Transplant—A prospective phase II study, *Clin. Med. Insights Oncol.* 8 (2014) 101–105.
12. Vrhovac R, Perić Z, Jurenec S, Kardum-Skelin I, et al. Post-thaw viability of cryopreserved hematopoietic progenitor cell grafts: does it matter? *Coll Antropol.* 2010 Mar;34(1):163-9.
13. O.M.W. de O. Felix, G. Tunes, V.C. Ginani, P.C. Simoes, ~ D.P. Barros, E. Delbuono, M.T. de S. Alves, A.S. Petrilli, M.L. de M. Lee, R.V. Gouveia, V.G. Zecchin, A. Seber, The influence of cell concentration at cryopreservation on neutrophil engraftment after autologous peripheral blood stem cell transplantation, *Hematol. Transfus. Cell Ther.* 40 (2018) 233–239.
14. T.L. Gonçalves, D.M. Benvegnú, G. Bonfanti, Specific factors influence the success of autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2 (2009) 82–87.
15. M. Guttridge, T. Soh, H. Belfield, C. Sidders, S. Watt, Storage time affects umbilical cord blood viability, *Transfusion* 54 (2014) 1278–1285.

16. Donmez A, Yilmaz F, Soyer N, Cagiran S, Arik B, Tombuloglu M. The loss of CD34 + cells in peripheral hematopoietic stem cell products cryopreserved by noncontrolled rate freezing and stored at -80 °C after overnight storage. *Transfus Apher Sci* 2014;51:188–92.
17. Watz E, Remberger M, Ringden O, Ljungman P, Sundin M, Mattsson J, et al. Quality of the hematopoietic stem cell graft affects the clinical outcome of allogeneic stem cell transplantation. *Transfusion* 2015;55:2339–50.
18. Morgenstern DA, Ahsan G, Brocklesby M, Ings S, Balsa C, Veys P, et al. Post-thaw viability of cryopreserved peripheral blood stem cells (PBSC) does not guarantee functional activity: important implications for quality assurance of stem cell transplant programmes. *Br J Haematol* 2016;174:942–51.
19. Bittencourt MCB, Mariano L, Moreira F, Schmidt-Filho J, Mendrone-Jr A, Rocha V. Cryopreserved versus non-cryopreserved peripheral blood stem cells for autologous transplantation after high-dose Melphalan in multiple myeloma: comparative analysis. *Bone Marrow Transplant* 2019;54:138–41.
20. Donmez A, Tombuloglu M, Gungor A, Soyer N, Saydam G, Cagiran S. Clinical side effects during peripheral blood progenitor cell infusion. *Transfus Apher Sci*. 2007;36:95–101.
21. Shu Z, Heimfeld S, Gao D. Hematopoietic SCT with cryopreserved grafts: adverse reactions after transplantation and cryoprotectant removal before infusion. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49:469–76.
22. Jac Santos NCF-C. Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: pharmacological, cellular and molecular aspects. *Biochem Pharmacol* 2003;65: 1035–41.
23. Hoyt R, Szer J, Grigg A. Neurological events associated with the infusion of cryopreserved bone marrow and/or peripheral blood progenitor cells. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:1285–7.
24. Alessandrino EP, Bernasconi P, Caldera D, et al. Adverse events occurring during bone marrow or peripheral blood progenitor cell infusion: analysis of 126 cases. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:533–7. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1701609>.
25. Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, Nayar R, Chin-Yee I. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. J Hematother*. 1996 Jun;5(3):213–26. doi: 10.1089/scd.1.1996.5.213.
26. Awan M, Buriak I, Fleck R, Fuller B, Goltsev A, Kerby J, Lowdell M, Mericka P, Petrenko A, Petrenko Y, Rogulska O, Stolzing A, Stacey GN. Dimethyl sulfoxide: a central player since the dawn of cryobiology, is efficacy balanced by toxicity? *Regen Med*. 2020 Mar;15(3):1463–1491. doi: 10.2217/rme-2019-0145.
27. Giralt S, Costa L, Schriber J, Dipersio J, Maziarz R, McCarty J, Shaughnessy P, Snyder E, Bensinger W, Copelan E, Hosing C, Negrin R, Petersen FB, Rondelli D, Soiffer R, Leather H, Pazzalia A, Devine S. Optimizing autologous stem cell mobilization strategies to improve patient outcomes: consensus guidelines and recommendations. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Mar;20(3):295–308. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.10.013.
28. Otrock ZK, Sempek DS, Carey S, Grossman BJ. Adverse events of cryopreserved hematopoietic stem cell infusions in adults: a single-center observational study. *Transfusion*. 2017 Jun;57(6):1522–1526. doi: 10.1111/trf.14072. Epub 2017 Mar 16. PMID: 28301051.
29. Mitrus I, Smagur A, Fidyk W, Czech M, Prokop M, Chwieduk A, Glowala-Kosinska M, Czerw T, Sobczyk-Kruszelnicka M, Mendrek W, Michalak K, Sadus-Wojciechowska M, Najda J, Holowiecki J, Giebel S. Reduction of DMSO concentration in cryopreservation mixture from 10% to 7.5% and 5% has no impact on engraftment after autologous peripheral blood stem cell transplantation: results of a prospective, randomized study. *Bone Marrow Transplant*. 2018 Mar;53(3):274–280. doi: 10.1038/s41409-017-0056-6.