



Recolección de células progenitoras en niños

Dinora Aguilar Escobar,* Doris Lordmendez Jácome*

Resumen

Antecedentes: El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica, es una alternativa de tratamiento para pacientes con determinadas enfermedades de tipo maligno o hemopatologías benignas. Ofrece ventajas como la facilidad en la recolección cuando se realiza por personal experto, bajo riesgo durante el procedimiento y recuperación hematológica más rápida. En los pacientes pediátricos se deben hacer consideraciones especiales. **Métodos:** Fase pre-recolección: **Condiciones de donador/paciente:** Peso, Grupo sanguíneo, Accesos venosos. Características del separador celular: Tipo de flujos, Volumen extracorpóreo, Velocidades de extracción/retorno. Vías adicionales. Fase de recolección: Inicio de la recolección, Anticoagulación. **Resultados:** La recolección se inicia con 5 a 20 células CD34+ microlitro en sangre periférica. Se utilizó ACD-A (citrato). Para aféresis de gran volumen se utilizó la combinación de ACD-A con Heparina y en ambas infusión continua de Gluconato de calcio. **Conclusiones:** El número de procedimientos a realizar es variable y dependerá del éxito de la movilización, de la dosis final de la cosecha calculada en relación al peso del paciente, lo que significa que es posible que se realicen 2 ó 3 procedimientos incluso hasta un segundo ciclo. Las recolecciones se concluirán hasta tener reportes de cosecha final y se haya obtenido la dosis terapéutica.

Palabras clave: Células progenitoras hematopoyéticas, aféresis, CD 34+, anticoagulación.

Abstract

Background: The hematopoietic stem cells transplantation of peripheral blood, is a benign alternative of treatment for patients with certain diseases of malignant type or hemopatologías. It offers advantages like the facility in the harvesting when it is realized by expert personnel, under risk during the procedure and faster hematological recovery. In the paediatric patients considerations are due to make special. **Methods:** Phase pre-harvesting: Conditions of patient donor/: Weight Sanguineous group Venous accesses Characteristics of the cellular separator: Type of flows. Extracorporeal volume. Speeds of/return extraction. Additional routes. Phase of harvesting: Beginning of the harvesting Anticoagulation. **Results:** The harvesting begins with 5 to 20 cells CD34+ microlitre in peripheral blood. ACD-A was used (citrate). For aphaeresis of great volume the combination of ACD-A with Heparina and in both continuous infusion of Gluconato of calcium was used. **Conclusion:** The number of procedures to realize is variable and will depend on the success of the mobilization, of the final dose of the harvest calculated in relation to the weight of the patient, which means that it is possible that 2 or 3 procedures are even realized until a second cycle. The harvestings will conclude until having reports of final harvest and the therapeutic dose has been obtained.

Key words: Hematopoietic stem cells, apheresis, CD 34+, anticoagulation.

* Departamento de Banco de Sangre del Instituto Nacional de Pediatría.

Introducción

Las células madre hematopoyéticas tienen la capacidad de diferenciarse a células hematopoyéticas maduras y nos brindan la posibilidad de utilizarlas para regenerar la médula ósea. Posterior a ciertos estímulos, las células tallo (CD34+) migran a sangre periférica facilitando su recolección de la circulación a través de la realización de aféresis. El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica (CPHSP), es una alternativa de tratamiento para pacientes con determinadas enfermedades de tipo maligno o hemopatologías benignas y ofrece ventajas como facilidad en la recolección cuando se realiza por personal experto, riesgo bajo durante el procedimiento, recuperación hematológica más rápida.

Células progenitoras hematopoyéticas

Las células tallo (stem cell) son células precursoras, pluripotenciales que pueden dar origen a diversos tejidos del organismo, por lo que se denominan también Células Tallo Hematopoyéticas Pluripotenciales (CTHP), son las precursoras de todas las células sanguíneas. Las CTHP se encuentran en la población CD34+ de la médula ósea y sangre de cordón umbilical, en mínimos porcentajes en sangre periférica. Cuando dichas células se encuentran ya comprometidas con un linaje específico se denominan células progenitoras.¹

Movilización

Factores de crecimiento hematopoyético

Los factores de crecimiento hematopoyético estimulan la producción de células progenitoras y son utilizados para su movilización de la médula ósea a sangre periférica con el objetivo de obtenerlas mediante leucoaféresis, ya que en

condiciones normales éstas se encuentran en la circulación en cantidades mínimas (0.06%).² Las células progenitoras circulantes en sangre periférica se encuentran en la capa linfomonocitaria y pueden extraerse mediante procedimientos de leucoaféresis con separadores celulares (procedimientos de aféresis). Se recomienda monitorizar la cifra de células CD34+ como control de la movilización para iniciar las aféresis cuando se detecte el pico máximo de CD34+ con el método de movilización empleado.³ Desde el primer día de inicio de la movilización se toman muestras sanguíneas para cuantificación de células mononucleares y de células CD34+ mediante citometría de flujo.

Un mínimo de 5-10 células CD34+/μL preaféresis se observa entre el día 4 y 5 día de la movilización.⁴ La dosis mínima recomendada de CD34+ es de $1.5-2 \times 10^6$ CD34+/Kg de peso del paciente. Dosis mayores de 5×10^6 CD34+/Kg aceleran el injerto leucocitario y plaquetario reduciendo las transfusiones y la hospitalización, considerándose por tanto la dosis óptima.

Procedimiento de recolección de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica

La obtención o recolección de las células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica (RCPH-SP), tiene como objetivo disponer de estas células en cantidad suficiente a dosis terapéutica (DT) y recolectadas mediante procedimientos de aféresis de la sangre de un donador sano (allogénico) que generalmente es un familiar (*relacionado*) o del mismo paciente (*autólogo*) y que, al infundirse ayuden a la recuperación de la hematopoyesis perdida como consecuencia de la quimioterapia mielosupresiva empleada durante el acondicionamiento.⁵ En los pacientes pediátricos se deben hacer consideraciones especiales, principalmente en el acceso venoso y el consentimiento informado de los padres o

tutores, la aplicación factores de crecimiento en donadores pediátricos sanos y los efectos adversos potenciales.⁶

Fase pre-recolección

1) Condiciones de donador/paciente:^{7,8}

A). **Peso del donador:** En los pacientes pediátricos es necesario establecer estrategias para disminuir o evitar riesgos de descompensación hemodinámica durante los procedimientos de recolección, si el paciente/donador tiene un peso menor a 20 kilos o con niveles de hematócrito (Hto) menores de 30%. Se debe realizar un segundo cebado del equipo desechable con concentrado eritrocitario (CE) el que deberá ser ABO y RH compatible, leucorreducido, radiado⁴ y con serología CMV negativa. Esto con el objetivo de evitar complicaciones como hipotensión arterial y/o datos de hipoxia tisular.

B). **Grupo sanguíneo** del donador y del paciente para detectar una posible incompatibilidad sanguínea. En caso de ser una **Incompatibilidad mayor** se deberá realizar la titulación de isoaglutininas A, B si se reportan = 1: 256 se deberá realizar un recambio plasmático en el receptor el día (-1) y otro el día 0 con el propósito de disminuir los niveles de las isoaglutininas y con ello el riesgo de hemólisis con la infusión de las CPH.

C). **Valorar accesos venosos:** éstos son fundamentales para la realización de cualquier procedimiento de aféresis. El procedimiento de recolección de CPH –SP abarcan periodos de tiempos prolongados (4-6 hr) y existe la posibilidad, sobre todo en donadores y/o pacientes en edad pediátrica, de realizarse varios procedimientos para alcanzar DT. Por lo que es fundamental valorarlos para decidir cuál será la mejor vía de acceso de acuerdo a la edad y peso del paciente: periféricos en el caso de

donadores adultos o adolescentes con peso mayor de 50 k y centrales a través de catéteres venosos rígidos, de 2 lúmenes con calibre adecuado al peso, por ejemplo < de 10 K de 7 Fr, de 8 Fr para pacientes entre 10 y 20 k, de 9-10 Fr cuando el peso está entre 20-50 k y de 9 a 13 Fr en mayores de 50 k.

2). **Características del separador celular,^{9,10}** en el que se realizará el procedimiento,^{8,9} como son: a) **tipo de flujos** (continuo, intermitente, discontinuo) de los cuales los recomendados sobre todo en pacientes pediátricos, son de flujo continuo pues se espera que el retorno del volumen sanguíneo y principalmente de la masa eritrocitaria sea por poco tiempo y lograr evitar de esta manera los riesgos de presentar efectos adversos secundarios como hipotensión y/o de hipoxia b). **Volumen extracorpóreo (VEC)** que maneja el desechable,⁷ se refiere al volumen de sangre total del paciente/donador que permanece en el circuito durante la fase de procesamiento que no debe exceder del 15% del volumen sanguíneo total (VST), se corre el riesgo descompensación hemodinámica por hipovolemia o de hipoxia por retención de masa eritrocitaria. Las características del CE deberán reunir las necesarias para limitar el riesgo secundario a la transfusión sanguínea en un paciente o en un donador sano que nunca se ha transfundido y sobre todo que no requiere de una transfusión, como son: enfermedad injerto contra huésped (EICH), infección por CMV y sensibilización a antígenos eritrocitarios y/o leucocitarios, que deberán compatibles a grupo ABO y Rh, leucorreducido, radiados y CMV (IgM) negativos, c). Velocidades de extracción/retorno (flujos en mL/min) fácilmente modificables para adecuarlas a las condiciones físicas y a su comportamiento hemodinámico durante del donador al procedimiento y a las características de los accesos venosos d). Vías adicionales para administración de soluciones: albúmina sangre, etc., preferentemente dentro del mismo equipo desechable.

Fase de recolección

A. Inicio de la recolección. Los criterios para predecir el momento de inicio de la recolección son varios, siendo los más recomendados: 1) Por calendario: entre el 4-6 día de inicio de la movilización, 2) Se considera el incremento mínimo de la cuenta total de leucocitos por arriba de 10,000/ μ L en relación a la cuenta inicial y cuentas de 50,000/ μ L coinciden con el pico máximo de CPH-SP, y 3). La cuenta de células CD34+ en sangre periférica. Se considera que la determinación de 5-20 eventos por microlitro de células CD34+ indican el inicio de la recolección, pero estudios han determinado que cuando las cuentas son cercanas a 40 células CD34+ predicen mejores cosechas.

Anticoagulación se dispone de ACD-A (citratro) para la aféresis estándar (AE) y para la aféresis de gran volumen (AGV) se recomienda la combinación de ACD-A con Heparina con el propósito de disminuir los efectos adversos relacionados a toxicidad por el citrato. Para disminuir los efectos relacionados a uso de citrato de recomendación la infusión continua de Gluconato de calcio (1 gr por cada 10 k de peso del donador) durante todo el procedimiento).

El número de procedimientos necesarios es variable y dependerá del éxito de la movilización, de la dosis final de la cosecha calculada en relación al peso del paciente, lo que significa que es posible que se realicen 2 ó 3 procedimientos incluso hasta un segundo ciclo, como suele suceder en las recolecciones autólogas, es decir las recolecciones se concluirán hasta tener

reportes de cosecha final y se haya obtenido la dosis terapéutica.

Referencias

1. Metcalf D. Cellular hematopoiesis in the twentieth century. *Seminars in Hematol* 1999; 36: 5-12.
2. Heldal D, Tjonnfjord G, Brinch L et al. A randomized study of allogeneic transplantation with stem cells from blood or bone marrow. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 1129-1136.
3. Benjamin RJ, Linsley L, Fountain D, Churchill WH, Sieff C, Cannon ME, Uhl L, Gaynes L, Antin JH, Wheeler C. Preapheresis peripheral blood CD34+ mononuclear cell counts as predictors of progenitor cell yield. *Transfusion* 1997; 37: 79-85.
4. Armitage S, Hargreaves R, Samson D, Brennan M, Kanfer E, Navarrete C. CD34 counts to predict the adequate collection of peripheral blood progenitor cells. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20: 587-591.
5. Takanori Teshima, Mine Harada. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)-Induced mobilization of circulating haemopoietic stem cells. *British Journal of Hematology* 1993; 84: 570-573.
6. Pulsipher MA, Nagler A, Iannone R, Nelson RM. Weighing the risks of G-CSF administration, leukopheresis, and standard marrow harvest: ethical and safety considerations for normal pediatric hematopoietic cell donors. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46: 422-33.
7. Jeter EK, Roby LR. Pediatrics apheresis. In: McLeod BC, Price TH, Drew MJ, eds. *Apheresis: Principles and practice*. Bethesda, MD: AABB Press, 1997.
8. Torrabadella T, Olive J, Ortega J, Massuet L. Enhanced HPC recruitment in children using LVL and a new automated apheresis system. *Transfusion* 2000; 40: 404-410.
9. Morton JAP, Baker DP, Hutchins CJ, Durrant STS. The COBE Spectra cell separator is more effective than the Haemonetics MCS-3P cell separator for peripheral blood progenitor cell harvest after mobilization with cyclophosphamide and filgrastim. *Transfusion* 1997; 37: 631-633.
10. Bambi F, Azzari LB, Gelli AMG, Tambuini A, Tintori V et al. Pediatric peripheral blood progenitor cell collection: Haemonetics MCS 3P *versus* COBE Spectra *versus* Fresenius AS 104. *Transfusion* 1998; 38: 70-74.

Correspondencia:

Dra. Dinora Aguilar Escobar

Correo electrónico: divi_ae@yahoo.com