

11218

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

FACULTAD DE MEDICINA

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION 3 SUROESTE DISTRITO FEDERAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**“OBTENCION DE CELULAS HEMATOPOYETICAS
DE SANGRE PERIFERICA CON FINES DE TRASPLANTE DE
MEDULA OSEA: EVALUACION DE DONADORES SANOS”.**

T E S I S

**QUE PRESENTA :
DRA. MARIA MARGARITA CONTRERAS SERRATOS
PARA OBTENER EL DIPLOMA EN:
LA ESPECIALIDAD EN: HEMATOLOGIA**

**ASESORES: DRA. ELIZABETH SANCHEZ VALLE
DRA. SANDRA QUINTANA GONZALEZ**



IMSS

MEXICO, D.F.

FEBRERO 2004

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

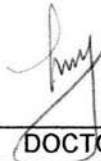
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



DOCTOR
ANTONIO CASTELLANOS OLIVARES
JEFE DE LA DIVISIÓN DE
EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI



DOCTOR
LUIS ANTONIO MEILLÓN GARCÍA
PROFESOR TITULAR DEL
CURSO DE POS-GRADO EN HEMATOLOGÍA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI



DOCTORA
ELIZABETH SÁNCHEZ VALLE
ASESOR DE TESIS
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI



DOCTORA
SANDRA QUINTANA GONZÁLEZ
ASESOR DE TESIS
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE AREA CLÍNICA HEMATOLOGÍA
BANCO CENTRAL DE SANGRE CMN SIGLO XXI



SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

SECRETARÍA DE SALUD
C.M.N. SIGLO XXI
HOSP. DE ESPECIALIDADES
RECIBIDO
20 FEB 2004
IV. EDUCACION E INVESTIG. MEDICA

REGISTRO NACIONAL DE TESIS DE ESPECIALIDAD

Delegación: 3 suroeste México DF. Unidad de adscripción HE CMN Siglo XXI .

Autor:

Apellido Paterno Contreras Materno Serratos Nombre María Margarita .

Matrícula 99140683 Especialidad Hematología Fecha Grad. 27/02/04

Asesor:

Apellido paterno Sánchez Materno Valle Nombre Elizabeth .

Matrícula 7891008 Especialidad Hematología Registro _____ .

Apellido paterno Quintana Materno González Nombre Sandra .

Matrícula _____ Especialidad Hematología Registro 160103 .

Título de la Tesis:

"OBTENCIÓN DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS DE SANGRE PERIFÉRICA CON FINES DE TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA: EVALUACIÓN DE DONADORES SANOS

Resumen:

La obtención de células progenitoras para reconstitución hematopoyética fue inicialmente a partir de la médula ósea con adecuada respuesta, sin embargo este procedimiento obliga al manejo hospitalario del donante. Se obtienen de un paciente (autólogo) o de un donador sano (allogénico). En las últimas décadas la sangre periférica y la sangre de cordón umbilical son alternativas como fuentes de obtención, ambas con diferente capacidad de reconstitución hematopoyética y de características inmunogénicas. Metodología: Se evaluaron donadores sanos de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica por procedimiento de aféresis con la máquina Fenwall CS3000, con movilización con Factor estimulante de colonias de granulocitos (FEC-G) a 10µg/Kg/día Se determinó la dosis de células CD34+ y de células mononucleares (CMN) obtenidas y su correlación con la cifra de leucocitos pre-aféresis en cada donador y procedimiento. Resultados: Se revisaron 67 procedimientos realizados en 28 donadores sanos (17 hombres; 11 mujeres); No hubo diferencia significativa en la Hemoglobina (Hb) y Hematocrito (Hto) pre-aféresis en ambos sexos y la cuenta de leucocitos fue ligeramente mayor en mujeres. Se procesó un volumen sanguíneo promedio de 14,050ml por procedimiento. Se presentaron efectos adversos al FEC-G en 38.8%. Se manejaron parámetros establecidos en el programa de recolección de células tallo de la máquina Fenwall CS3000 (Baxter). En el (85%) el acceso se realizó a través de venas periféricas. No existió correlación entre la cifra de leucocitos pre-aféresis en el donador y la cuenta de células mononucleares y células CD34+ en el producto, con una r de Pearson e 0.067 no significativa. En el 35.8% se presentaron efectos adversos al procedimiento de aféresis que en su mayoría fueron síntomas leves de hipocalcemia que mejoraron con manejo conservador. La viabilidad celular se encontró por arriba del 90% en 93.6% de los procedimientos realizados a partir del 2001.

Palabras clave

1) Células Progenitoras 2) Trasplante de médula 3) _____ .

4) _____ 5) _____ Pags. _____ Ilus _____ .

(Anotar el número real de páginas en el rubro correspondiente sin las dedicatorias ni portada.)

Para ser llenado por el Jefe de Educación e Investigación Médica.

Tipo de Investigación: C1

Tipo de Diseño: C11

Tipo de Estudio: TE3c

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por darme la vida, así como paciencia y fortaleza para lograr una meta más.

A MIS PADRES

Por creer en mí y darme el apoyo incondicional, y la libertad que me dieron para decidir el camino a seguir.

A MIS HERMANOS

Luis Fernando, José Alfredo, Mario Alberto, Laura, Lupita, Esteban y Teresa por ser como son, por confiar en mí y ayudarme a seguir adelante.

A MI NOVIO JHONATHAN

Por que me acompañó en los momentos felices de este caminar y me ayudó a superar los momentos difíciles, siempre con amor y comprensión. Por confiar en mí y tener a cada momento una palabra dulce para darme ánimo.

A MIS AMIGOS

Esteban G., Margarita V., Gabriela Z., Vitelio M., Orlando A., Efrén M., Anabel R., que a lo largo de mi carrera estuvieron pendientes de mis avances y para apoyarme en mis caídas de manera incondicional

A MIS MAESTROS

Dra. Sánchez, Dr. Pérez, Dr. Terreros, Dra. Gómez, Dr. Chávez, Dr. Gutiérrez, Dra. Graillet, Dra. Guillen, Dr. Gómez, Dr. Medrano, Dr. Nacho, Dra. Gutiérrez, Dr. Meillón que me apoyaron, me dieron confianza y me ayudaron a entender lo que era importante para mi formación como especialista, además de ser algunos de ellos mis amigos. Además de Laura Rabelo, Sergio Gutiérrez, Rocío Godínez, Silvia y Lupita Montiel del laboratorio de Hematología Especial que me enseñaron morfología y coagulación.

AL PERSONAL DEL BANCO CENTRAL DE SANGRE

Dra. Sandra Quintana, Javier Bautista, José Luis Alcaraz, Lilia Rodríguez, María Emilia, Asistente médica Alma, enfermera Lucy, Dra. Paula Hernández, Secretaria Lupita, que me apoyaron para el desarrollo de esta tesis.

A MIS COMPAÑEROS

Felipe Lizárraga, Mireya Portillo, Emma Álvarez, Samuel Celestino, Honorine Parra, que nos conocimos desde que llegue a este hospital y luego fuimos un equipo solidario para aprender y corregir nuestros errores por el bien de los pacientes. Así como a Alejandro, Nancy, Carolina y Edgar por compartir tantos momentos y experiencias juntos.

INDICE

I. Resumen	5
II. Introducción	8
III. Justificación	17
IV. Objetivos	19
V. Material y métodos	20
o Descripción de variables	21
o Procedimientos	25
o Cronograma de actividades	29
VI. Consideraciones éticas	30
VII. Resultados	31
VIII. Discusión	45
IX. Anexos	48
X. Bibliografía	57

RESUMEN

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) introducido desde 1963, ha sido una estrategia terapéutica en el manejo de múltiples estados de falla medular, problemas metabólicos, inmunes y neoplásicos hematológicos o sólidos, con diferentes modalidades a través de su evolución. La obtención de células progenitoras para reconstitución hematopoyética fue inicialmente a partir de la médula ósea con adecuada respuesta, sin embargo este procedimiento obliga al manejo hospitalario del donante, ya sea el paciente si se trata de un procedimiento autólogo o de un donador sano en el caso de trasplante alogénico. Con la investigación de la cinética de las CPH se han desarrollado metodologías diferentes para su obtención, tomando en las últimas décadas mayor auge la sangre periférica y la sangre de cordón umbilical como fuentes de obtención, ambas con diferente capacidad de reconstitución hematopoyética y de características inmunogénicas, lo cual permite a los clínicos de trasplante elegir la fuente celular más apropiada de acuerdo a las características de la enfermedad a tratar.

El desarrollo en forma rutinaria del uso de sangre periférica a partir de donadores sanos para obtención de CPH, sólo fue posible a través del desarrollo de políticas de selección de donadores que garanticen la calidad de dichas células y la seguridad del binomio donador-receptor durante el proceso. Otras estrategias ha sido implementar diferentes metodologías y dispositivos para la obtención de CPH

de sangre periférica con el apoyo de factores estimulantes de colonias que han mejorado la dosis obtenida sin poner en riesgo al donante..

Metodología: Se evaluaron donadores sanos de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica por procedimiento de aféresis con la máquina Fenwall CS3000, previa movilización con Factor estimulante de colonias-de granulocitos (FEC-G) a 10µg/Kg/día por vía subcutánea en una sola aplicación al día, por 5-7 días; se revisaron los efectos adversos a la aplicación del mismo, así como los derivados del procedimiento de aféresis. Se determinó la dosis de células CD34+ y de células mononucleares (CMN) obtenidas y su correlación con la cifra de leucocitos pre-aféresis en cada donador y procedimiento.

Resultados: Se revisaron 67 procedimientos realizados en 28 donadores sanos (17 hombres; 11 mujeres); en 51% de los procedimientos el grupo sanguíneo fue O, Rh+ y en 33% A, Rh +. No hubo diferencia significativa en la Hemoglobina (Hb) y Hematocrito (Hto) pre-aféresis en ambos sexos y la cuenta de leucocitos fue ligeramente mayor en mujeres. Se procesaron 2-3 veces el volumen sanguíneo total con un promedio de volumen procesado de 14,050ml por procedimiento. Se presentaron efectos adversos al FEC-G en 38.8% con predominio de mialgias (38.8%), artralgias (35.82%), cefalea (17.91%) y dolor óseo (13.43%) como síntomas principales. La mitad de los procedimientos se realizaron en el día 5° de aplicación de FEC-G y el 46% en el día 6, solo 1 caso en día 7. Se manejaron parámetros establecidos en el programa de recolección de células tallo de la

máquina Fenwall CS3000 (Baxter). En la mayoría de los procedimientos (85%) el acceso se realizó a través de venas periféricas. En 36/67 procedimientos, en 50% de ellos (18/36) se obtuvo una dosis de células CD34+ mayor a $2 \times 10^6/\text{Kg}$. En los 31 procedimientos restantes, en 67% de estos casos, con 2 procedimientos se obtuvo una dosis similar.. No existió correlación entre la cifra de leucocitos preaféresis en el donador y la cuenta de células mononucleares y células CD34+ en el producto, con una r de Pearson e 0.067 no significativa. En el 35.8% se presentaron efectos adversos al procedimiento de aféresis que en su mayoría fueron síntomas leves de hipocalcemia que mejoraron con manejo conservador. La viabilidad celular se encontró por arriba del 90% en 93.6% de los procedimientos realizados a partir del 2001.

INTRODUCCIÓN

El trasplante de médula ósea (TMO), fue introducido por E. D. Thomas en 1963 en su forma clásica. Actualmente, con múltiples modalidades, siendo una estrategia terapéutica para el manejo de diversos estados de falla medular, errores innatos del metabolismo, inmunodeficiencias y procesos neoplásicos sólidos o hematológicos. El TMO se fundamenta en la obtención de células progenitoras hematopoyéticas del mismo paciente para un procedimiento autólogo o de un donador sano, relacionado o no, en procedimientos alogeneicos, con compatibilidad del sistema de Histocompatibilidad de Antígenos Leucocitarios (HLA) clase I y II para lograr la reconstitución a largo plazo de una hematopoyesis normal. (1-5)

A la fecha, se han encontrado cuatro sitios de obtención de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) que son: médula ósea, hígado fetal, sangre periférica y cordón umbilical; con diferencias en su capacidad para reconstituir la hematopoyesis; así como en sus características inmunogénicas. (1, 6)

Tomando en cuenta la necesidad de donadores sanos en procedimientos alogeneicos de TMO, existen procedimientos de selección que someten al donador a una evaluación clínica y exámenes de laboratorio, con la finalidad de hacer del proceso de donación una estrategia de apoyo para el paciente con la mayor seguridad tanto para el paciente como para el donador. Esto con múltiples lineamientos establecidos en los protocolos de trasplante de cada institución; ya

que en México no existe consenso ni estatutos establecido propios para dicho procedimiento, hay algunos lineamientos que se toman como base para el desarrollo de protocolos de Trasplante de Médula Ósea en nuestro país. En general se toma en consideración algunos lineamientos de la (FACHT); así como otros de la Norma Oficial Mexicana para la obtención sangre y sus derivados con fines terapéuticos, estableciendo protocolos aceptados por la Asociación Nacional de Trasplante y los comités de cada institución.(7,8)

Existen algunas ventajas y desventajas en relación al sitio de obtención de CPH de acuerdo a su capacidad y rapidez para reconstituir la hematopoyesis; a la presencia de un efecto de las CPH injertadas contra la Leucemia del Receptor denominado injerto contra leucemia, así como el efecto del injerto contra el organismo del huésped, que se ha observado son diferentes y actualmente se realizan estudios para determinar el sitio ideal de obtención. Estos se toman en consideración sobretodo para la selección tanto del paciente como del donador.

En la tabla 1.0, se enlistan las más importantes:

Tabla 1.0 - Trasplante Médula Ósea de CPH de Médula Ósea

- Requiere admisión hospitalaria
- Requiere procedimiento anestésico
- Punción medular múltiple
- Dolor relacionado post-procedimiento (óseo pélvico)
- Un solo procedimiento para obtener la dosis necesaria
- Fuente de primera elección
- Obtención de un Injerto exitoso y seguro a largo plazo

<ul style="list-style-type: none"> • Incidencia EICH agudo similar al procedimiento de aféresis • Menor incidencia de EICH crónico que en el caso de aféresis • Menor cantidad de linfocitos infundidos
Trasplante Médula Ósea de CPH de Sangre Periférica por Aféresis
<ul style="list-style-type: none"> • Procedimiento ambulatorio • Movilización de CPH con FEC-G 5 días previos supervisada • Dolor óseo u otros síntomas relacionados al FEC-G • Necesidad de acceso venoso central o periférico • Molestias relacionadas al procedimiento de aféresis • Necesidad de múltiples procedimientos para obtener la dosis • Mejor efecto injerto contra leucemia que el de MO • Mayor número de CMN y CD34 • Infusión de mayor número de linfocitos • Se logra un injerto seguro a largo plazo • Incidencia de EICH agudo similar al de MO • Mayor incidencia de EICH crónico que en el de MO
Trasplante Médula Ósea de CPH de cordón umbilical
<ul style="list-style-type: none"> • Se obtiene mayor número de células inmaduras CD34+ • Menor incidencia de EICH • Injerto seguro a largo plazo • Creciente utilización de esta fuente
Trasplante Médula ósea de CPH de Hígado Fetal
<ul style="list-style-type: none"> • Utilizada en algunos estudios anecdóticos con éxito a corto plazo

La donación de CPH de Sangre periférica (SP) ha sido una alternativa utilizada en las últimas décadas, con adecuada aceptación. En un principio como procedimiento de segunda elección como fuente de CPH y más tarde se considero como de primera elección, tomando en cuenta que es una adecuada fuente para trasplante de médula ósea con obtención de mayor número de células

mononucleares. El mayor efecto adverso encontrado es el dolor u otros síntomas relacionados con la aplicación de Factor Estimulante de Colonias-Granulocitos (FEC-G) en el donador sano, para movilización de células previo al procedimiento de aféresis. Por otro lado, se ha observado en algunos estudios que existe la misma posibilidad de presentar Enfermedad injerto contra huésped (EICH) agudo en ambas modalidades, médula ósea y sangre periférica; sin embargo estudios recientes muestran que existe un efecto injerto contra Leucemia (EICL) mejor en productos de sangre periférica por la mayor infusión de linfocitos del donador respecto a los productos de MO; pero se ha observado un incremento en la presentación de EICH que evoluciona a cronicidad en la primera modalidad.⁽⁹⁻¹²⁾

En cuanto al impacto psicológico y emocional del procedimiento en el donador, el proceso de obtención de CPH de sangre periférica parece tener mayor aceptación; se han realizado estudios encontrando que la realización de este por aféresis es un método mejor aceptado, que puede generar el mismo grado de ansiedad que procedimiento de MO pero que es considerado por los donadores como menos incapacitante por ser ambulatorio y requiere menor tiempo para recuperación.^(13,14) Con la técnica inicial, se realizaba el procedimiento en un donador bajo anestesia por múltiples punciones para aspiración de médula ósea para colectar como "suficiente" una dosis entre $1-3 \times 10^8/k$ del receptor de células nucleadas para permitir el injerto. Entonces, no era tan factible evaluar y/o correlacionar la dosis de células infundida con el pronóstico del trasplante. En la década de los 90's esto se facilitó por el descubrimiento del CD34 como marcador para la población de las CPH que proveen la hematopoyesis.⁽¹⁰⁾

Habitualmente una mínima cantidad de CPH se encuentran circulantes en sangre periférica; algunos han reportado solo un 0.05% de forma habitual, por lo que la obtención de estas, se llevaba a cabo por medio de aféresis pero mediante la realización de múltiples procedimientos. La dosis de CPH para Trasplante de médula ósea difiere según los diferentes estudios; algunos consideran óptima una dosis de células CD34 + de $4-5 \times 10^6/k$ de peso del receptor para lograr una recuperación adecuada de la hematopoyesis, sin embargo, otros estudios han demostrado recuperación con dosis de al menos $2.5 \times 10^6/k$ CD34+ solo con variación en el tiempo de recuperación, tomando la última cifra como mínima en trasplante Autólogo sobretodo por la dificultad para obtener número mayor de CPH en estos pacientes por el antecedente de exposición a quimioterapia citotóxica por la patología base. En cambio, en el Trasplante Alogénico se realizan maniobras en donadores sanos para obtener las CPH. También hay variabilidad en cuanto a estas en los diferentes centros de trasplante. Así, la incapacidad para alcanzar cifras entre $1-3 \times 10^6/k$ de CD34+ hace a dicho producto no apto para trasplante en determinadas instituciones. (1, 6,12)

La obtención de una cifra de células CD34+ adecuada en procedimientos autólogos ha sido realizada con movilización de CPH; con quimioterapia sola o asociada a administración de FEC-G, con mejores resultados con ciclos de quimioterapia con FEC-G de forma secuencial aunque, con cosechas bajas por la exposición previa a quimioterapia y la baja reserva medular. En donadores sanos para trasplante alogénico, la movilización con FEC-G/GM ha sido adecuada,

umentando el número de CPH circulantes, seguidos de procedimientos de leucoaféresis generalmente entre el día 5-7 del inicio de movilización hasta lograr una dosis adecuada de CD34+; se ha documentado que se llega a lograr la dosis en un solo procedimiento de aféresis en 59%, 2 aféresis en 31% y 3 procedimientos en 10% de los donadores. (1,15). Se ha estudiado la movilización de CD34+ con FEC-G así como con otras citocinas como la eritropoyetina, Interleucina-3 y FLT3. Estas últimas no han demostrado marcado beneficio sobre la utilización del FEC-G/GM por lo que solo este último es aceptado, con estudios que demuestran mejor movilización con FEC-G solo, aunque se han hecho combinaciones con FEC-G seguido de FEC-GM en forma secuencial con mejoría de la movilización.

La dosis de Factor estimulante óptima no se ha establecido, sin embargo se han realizado múltiples estudios con el fin de obtener el mayor número de CD34+, con el menor efecto en el donador. Posterior a la aplicación de FEC-G el pico de células CD34+ se ha observado entre el día 5-6 en donadores sanos; Las dosis utilizadas en los diferentes centros oscilan entre 2-24 μ g/k/día; algunos han utilizado esquemas cortos en infusión de 24hrs con buena respuesta, pero con necesidad de admisión hospitalaria por la forma de administración, otros estudios han evaluado las dosis de 5-8 μ g/k fraccionada en dos aplicaciones al día que han tenido resultados similares a la dosis de 10 μ g/k una vez al día, siendo esta dosis la recomendada por el Grupo Europeo de Trasplante de Médula Ósea. El fármaco se aplica de forma supervisada, con efectos adversos tales como, dolor óseo, mialgias, artralgias, cefalea principalmente que suelen ser de leves a moderados

y solo reportes escasos de complicaciones graves como la ruptura esplénica por esplenomegalia, con manejo conservador en la mayoría. (12, 15, 16,22)

Un enigma es el efecto deletéreo del FEC-G sobre la hematopoyesis de donadores sanos y los efectos del mismo a largo plazo. Existen estudios que demuestran seguimiento de donadores sanos expuestos a FEC-G con promedios de 3-5 años sin demostrar incremento en la incidencia de leucemia. Otros estudios han encontrado algunos efectos adversos a plazo inmediato relacionados al FEC-G como es el incremento en la talla del bazo durante los días de exposición al FEC-G con resolución a los 2-3 días después de discontinuarlo y algunas complicaciones graves como la ruptura del bazo en algunos casos anecdóticos, al parecer directamente proporcional al crecimiento esplénico que puede ser tratada de forma conservadora generalmente, aunque si hay casos de cirugías por tal causa. (12-18)

Respecto al procedimiento de aféresis para la obtención de CPH con fines de trasplante es importante destacar que la eficiencia en la obtención de CPH conlleva tomar en cuenta el número leucocitos y/CD34+ circulantes pre-aféresis así como la trombocitopenia y otros efectos adversos relacionados al procedimiento. Generalmente se procesan 2-3 volúmenes sanguíneos totales por procedimiento para lograr una obtención adecuada de CD34+ con cifra mínima de 2.5×10^6 . Hay estudios que evalúan la cantidad de CD34+ en relación a procedimiento de aféresis, esperando una mayor cosecha cuando se procesa un mayor volumen sanguíneo total (VST); otros estudios comparan la leuco-aféresis

procesando volúmenes de 8 o de 12 litros observando que no hay diferencia significativa en el número de CPH obtenidas, y que no se reduce el número de aféresis realizadas.⁽¹⁹⁾ Sin embargo otros estudios han encontrado que la realización de leuco-aféresis de alto volumen (25 litros) dan un número similar de CD34+ con trombocitopenia de misma intensidad respecto a volúmenes menores (15 litros) y si logran la reducción del número de aféresis.⁽²⁰⁾

Por otro lado, existe la posibilidad de pobre movilización de células CD34+ con cifra sub-óptima para TMO, con necesidad de múltiples aféresis ya sea subsecuentes o la necesidad de un segundo trasplante en pacientes de alto riesgo; existen estudios en los que se ha observado que para obtener una cifra adecuada de CPH (CD34+) o similar a una primera adecuada es necesario realizar nueva movilización y obtención de CPH por aféresis dejando un tiempo considerable durante los procedimientos para favorecer auto-renovación hematopoyética y evitar efectos adversos en el donador.⁽²¹⁾ Así también hay estudios que comentan la posibilidad de que características del donador influyan en el número de CD34+ colectadas; reportando en algunos estudios que la edad mayor de 55 años puede asociarse con pobre movilización, requiriendo mayor número de aféresis para lograr la dosis para trasplante; otro factor relacionado es el esquema de aplicación de aplicación de FEC-G para movilización como antes se comentó.^(12, 15, 16,22)

Existen diferentes dispositivos para la obtención de CPH basados en densidad óptica de estas. Dichos dispositivos, entre sí, varían en algunas características

como es el número de plaquetas obtenidas en la bolsa recolectora, el tiempo total de cada procedimiento, la cantidad de CD34+ obtenidas y la cantidad de células que puedan interferir en la preservación de las CPH cuando así sea necesario como los eritrocitos y plaquetas; sin embargo, en algunos estudios se ha observado que se obtienen cifras de CPH similares o no significativamente diferentes en los diversos dispositivos, con algunos que van a favor del equipo Spectra y por otras características es preferible en equipo CS3000.^(23,25)

JUSTIFICACIÓN

Actualmente en la mayoría de los centros hospitalarios donde se realiza Trasplante de Médula Ósea se establecen programas tanto de selección de donadores como manuales de procedimientos tomado en consideración la fuente de Médula Ósea así como la movilización de donadores sanos con citocinas para obtener CPH para trasplante alogénico con FEC-G siendo ambas opciones adecuadas; tomando la modalidad de sangre periférica como una fuente adecuada para Trasplante en pacientes sobre todo con neoplasias hematológicas o enfermedades que cursan con falla medular, con éxitos logrados tanto a nivel internacional como nacional. Por la factibilidad de utilizar esta modalidad, se han desarrollado lineamientos basados en programas de Trasplante de otros países y en acuerdo con los comités nacionales con la finalidad de ofrecer a los pacientes una opción curativa.

La obtención de CPH de donadores sanos por procedimiento de aféresis inició en enero del año 2000 en el Banco de Sangre Centro Médico Nacional Siglo XXI, con base en el protocolo de TMO del Hospital Especialidades eminentemente alogénico, realizando movilización de donadores sanos relacionados con la administración de Factor Estimulante de Colonias Granulocitos o Granulocito-Macróforo con aparente adecuada tolerancia tanto al FEC-G como al procedimiento previamente estandarizado. Tomando en cuenta la infraestructura y recursos necesarios en la institución dicho procedimiento se realiza cuando se cuenta con un donador sano HLA compatible por técnica serológica y molecular

(5-6/6 haplotipos), así como mediante una amplia evaluación clínica y de laboratorio.

Con la información disponible en los múltiples estudios realizados en varios países acerca de la seguridad en la utilización de FEC-G para movilización de donadores sanos por sus posibles riesgos a corto y largo plazo, aún en investigación, es muy importante hacer una revisión de nuestra población sometida a administración de dicha citocina, así, como la revisión de los efectos encontrados relacionados al procedimiento de aféresis, no del todo inocuo utilizado en donadores sanos incluidos desde el inicio del programa en nuestra unidad, tomando como referencia lo estudios antes mencionados con la finalidad de evaluar resultados y replantear las situaciones necesarias para mejoramiento del mismo. Con el objeto además de obtener información que se pueda tomar como referencia para posterior correlación con la evolución clínica de los pacientes sometidos a trasplante de médula ósea de donador alogénico relacionado.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluamos los hallazgos relacionados con los donadores de CPH de sangre periférica sometidos al protocolo de movilización con FEC-G con fines de trasplante de médula ósea, así como los relacionados a procedimiento de aféresis en el equipo CS3000, procesando 2-3 veces el Volumen Sanguíneo Total en cada procedimiento.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Investigamos el promedio de CMN y CD34+ colectadas por procedimiento y en total por paciente

Valoramos la relación de la cuenta de leucocitos pre-aféresis con la cuenta de CMN y células CD34+ obtenidas en cada paciente por procedimiento realizado.

Identificamos efectos adversos relacionados a aplicación de FEC-G en nuestra población.

Evaluamos los efectos adversos relacionados al procedimiento aféresis en nuestra población.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Retrolectivo, transversal, descriptivo, cuasi-experimental.

Universo de trabajo

Todos los donadores sanos, elegibles para obtención de CPH de sangre periférica mediante movilización con citocinas –Factor estimulante de colonias granulocitos– con fines de trasplante de médula ósea de donador relacionado HLA compatible en 5-6/6 haplotipos por estudio HLA serológico y molecular; que se admitieron en el programa de donación por aféresis del Banco Central de Sangre Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS basado en algunos lineamientos del programa de la FACHT y los establecidos por el BCS en el período comprendido de 01 enero 2000 al 30 junio 2003

Descripción operativa de variables

Trasplante de Médula Ósea

Procedimiento terapéutico útil en múltiples enfermedades metabólicas, congénitas y neoplásicas de origen hematopoyético o sólidas. Deriva de la reconstitución de la hematopoyesis por reemplazo de la médula ósea anormal por células progenitoras hematopoyéticas de un donador antólogo (el mismo paciente posterior a tratamiento) o alogénico (de un donador sano).

Factores Estimulantes de Colonias Mieloides (Filgrastim/Neupogén)

Estimula diferenciación y maduración de una o más líneas mieloides así como la función de los granulocitos.

Filgrastim: Glucoproteína recombinante de 175 aminoácidos producida en *Escherichia Coli* no glucosilado que porta una metionina N-terminal adicional, que sirve para incrementar la cuenta de neutrófilos y para aumentar las propiedades fagocíticas y citotóxica de los neutrófilos.

Leucocitos basales y previos a cada procedimiento aféresis

Variable cuantitativa continua. Cifra de leucocitos previa a la administración de FEC-G, el primer día de aplicación del mismo y la cifra basal previo al inicio de cada procedimiento de aféresis.

Leuco-aféresis

Variable cualitativa. Procedimiento de extracción de células sanguíneas con método de separación por centrifugación y densidad óptica de acuerdo al grupo celular que se desea obtener.

Células Mononucleares

Variable cuantitativa continua. Células derivadas de la suma de Linfocitos y Monolitos totales en sangre periférica así como en el producto de aféresis, según la diferencial realizada por el CELL-Dyn.

Células CD34+

Variable cuantitativa continua. Células hematopoyéticas con marcador de superficie CD34+ determinadas por citometría de flujo con incubación de una muestra del producto de aféresis con ficoeritrina, procesada en ProCOUNT Laboratory report FACScalibur E4042 Becton Dickinson.

Variables independientes

Aplicación de Filgrastim a $10\mu\text{g}/\text{k}/\text{día}$ por 5 días pre-aféresis y los días de aféresis previo a cada procedimiento.

Variables dependientes

Cuenta células mononucleares

Cuenta células CD34+

Variable de confusión

Edad

Sexo

Peso

Selección de la muestra

Se evaluaron todos los donadores consecutivos incluidos a programa de donación alogénica de CPH por procedimiento de aféresis con previa movilización con FEC-G en el BCS CMNSXXI en el periodo comprendido del 01 enero 1999 al 30 junio 2003. Tomando en cuenta que no existe una norma Mexicana para la selección de donadores de CPH con fines de Trasplante, se evaluaron los donadores tomando en cuenta algunos criterios de la FACHT así como criterios establecido en el comité de Trasplante de Médula Ósea del BCS CMNSXXI.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

Donadores sanos

Edad mayor de 16 años

Formato autoexclusión con opción sangre segura

No factores de riesgo para transmisión enfermedad vía sanguínea

Serología negativa para VIH, VHB, VHC, VDRL

Evaluación médica

Compatibilidad HLA técnica serológica y molecular haplotipos A, B, C, DR,

DP y DQ con compatibilidad receptor: donador 5-6/6 haplotipos

Ambos sexos

Criterios de no inclusión

Expedientes de donadores que no fueron elegibles para trasplante de médula ósea (no compatibilidad HLA, problemas de salud)

Criterios de exclusión

Donadores ya incluidos que no completaron secuencia por problema (médico, administrativo u otro).

Donadores elegibles menores de 16 años

Donadores elegibles para procedimiento autólogo

Procedimientos:

Una vez que se considera un paciente como elegible para recibir un Trasplante de Médula Ósea como opción terapéutica, es necesario realizar la búsqueda de un donador relacionado HLA compatible por técnica serológica y molecular con 5/6 ó 6/6 haplotipos idénticos. Dicho donador también se debe somete a una serie de estudios de elegibilidad para hacer el proceso de donación un evento seguro para el binomio donador: receptor, siendo este como sigue: La vigencia de estudios es de 30 días.

Día	-30	-10	-7	-4	-3	-2	-1	0	1
HLA	X								
Historia Clínica BCS	X								
Serología VIH/VHB/VHC CMV/VEB/DRDL Donador/receptor	X								
BH/QS/ES/PFH	X		x	X		X		X	X
Inmunofenotipo serie roja Donador/receptor	X								
Elegibilidad donador	X								
Elegibilidad receptor	X								
Colocación catéter donador			X						
Colocación catéter receptor		X							
Acondicionamiento receptor			X						

Movilización FEC-G donador 10 μ g/k/día por 5-7 días				X	X	X	X	X	X
Aféresis donador								x	X
Infusión receptor								x	x

El donador una vez que es elegible se programa la administración de un curso de FEC-G a 10 μ g/k/día por 5-7 días (Filgrastim), acudiendo a su aplicación de Servicio clínico BCS, premeditado con paracetamol 0.5-1g oral 30 minutos antes de cada aplicación. Se toma una Biometría hemática (BH) basal (previo al inicio de FEC-G), y una BH de control previo al 1er procedimiento de aféresis y a los subsecuentes. Se programa con el BCS el inicio de los procedimientos de aféresis en el día 5° de aplicación de FEC-G, realizando 1-3 procedimientos en días subsecuentes según la cifra de CD34+ obtenidas en cada procedimiento, determinadas por citometría de flujo.

El procedimiento de aféresis se realiza de acuerdo al protocolo establecido de la máquina CS3000 de Baxter con una velocidad de Centrifuga entre 1000-1600rpm, con interfase offset de 140; flujo salida sangre total 40-70ml/minuto, según tolerancia del donador y la vía disponible. Se utiliza como anticoagulante ACD-A (Baxter o Grifols) con relación 8-13/1 (Ácido cítrico anhidro 0.37g; citrato trisódico dihidrato 2.20g; dextrosa monohidrato 2.45g; agua para inyección 100ml; en solución total 1000cc). Se procesa de acuerdo al volumen sanguíneo total entre

6750-21,600ml volumen sanguíneo (2-3 volúmenes) por procedimiento de aféresis. La bolsa recolección 250ml de células progenitoras hematopoyéticas.

Se dio profilaxis o tratamiento con calcio intravenoso en caso de datos hipocalcemia por uso del anticoagulante (ACD). Solución ampolletas gluconato calcio 1gr inyectable diluida en solución salina 0.9%. Se utilizó solución fisiológica salina 0.9% para reposición de volumen durante el procedimiento de aféresis.

Una vez terminado el procedimiento se realizó cuenta de CMN y CD34+ de la bolsa de recolección por citometría de flujo, muestra incubada con ficoeritrina así como evaluación de viabilidad celular con azul de tripano en microscopio óptico.

Análisis estadístico

Se realiza evaluación estadística utilizando medidas de tendencia central y dispersión. Coeficiente de correlación (r de Pearson) de la cuenta total de leucocitos logrados con filgrastim y la cuenta de CMN y CD34+. Evaluación de significancia estadística con valor $P < 0.05$.

Recursos para el estudio

Recursos humanos:

Médico Hematología evaluación donador y validación procedimientos
Médico Patología Clínica/Hematología para evaluación clínica de donadores
Enfermeras Área Clínica BCS para realización procedimiento Aféresis
Residente de Hematología recolección de datos.
Químico evaluación de parámetros BH, Aféresis células progenitoras.

Recursos materiales

FEC-G (filgrastim)
Equipo para citometría hemática Cell Dyn 3700 con diferencial.
Citometría de flujo: ProCOUNT Laboratory report FACScalibur E4042
Becton Dickinson
Máquina aféresis Fenwall CS 300 Plus Cell separator Baxter Deerfield IL
USA
Computadora COMPAQ Presario
Programa Microsoft Word y base datos Microsoft Excel
Programa SSPS y Graph Pad Prism para evaluación estadística
Expedientes donadores BCS CMNSXXI
Hojas, lápices, plumas

Recursos financieros

El procedimiento se realizó en donadores de pacientes derechohabientes del IMSS, de acuerdo a protocolos establecidos.

Cronograma de actividades

Actividad	2000	2001	2002	2003	Junio/03	Enero/2004	Febrero/2004
Inclusión donadores	X	X	X	X	X		
Realización Protocolo					X	X	
Recolección de datos					X	X	
Evaluación datos						X	X
Análisis estadístico						X	X
Entrega tesis							X

Anexos

Hoja consentimiento informado para procedimiento de obtención células progenitoras por procedimiento de aféresis

Hoja de recolección datos por procedimiento de aféresis

Consideraciones éticas

Por tratarse de una maniobra con riesgo superior al mínimo de acuerdo a la Ley General de Salud requiere consentimiento con información el cual se obtuvo de todos los donadores sometidos a procedimiento de colección células progenitoras de sangre periférica por aféresis (se anexa hoja consentimiento informado)

RESULTADOS

Desde el inicio del programa de recolección de CPH de sangre periférica en el Banco Central de Sangre Centro Médico Nacional Siglo XXI se han realizado 193 procedimientos de los cuales 101 (52.3%) fueron para trasplante autólogo y 92 (47.7%) se realizaron en donadores sanos con fines de trasplante alogénico; además 181 (93.8%) se realizaron en pacientes y donadores sanos de más de 16 años de edad. Estos procedimientos fueron realizados en su mayoría con un programa de recolección de CPH del sistema de aféresis Fenwall CS3000 (149/193) y el resto en el sistema COBE Spectra (43/193).

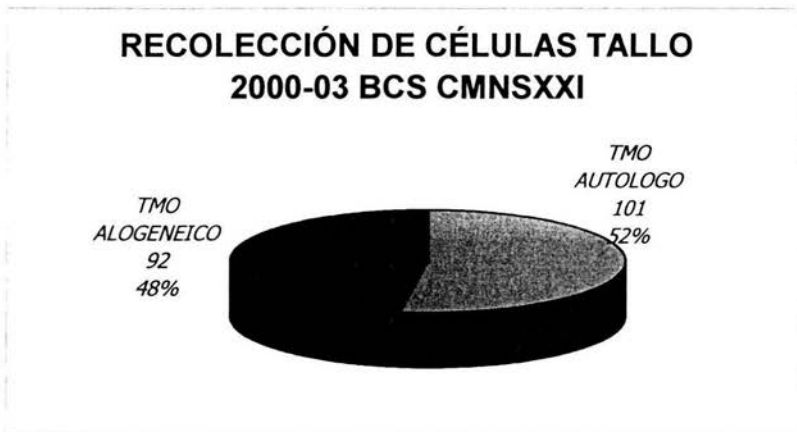


Gráfico 1: Total de procedimientos de recolección de células tallo desde el inicio del programa en BCS CMNSXXI

En nuestro análisis se incluyeron 67 procedimientos de recolección de células tallo de sangre periférica realizados en 28 donadores sanos, 17 hombres (60.7%) y 11 mujeres (39.3%), en el sistema Fenwall CS3000 dentro del periodo

comprendido entre el 01 enero del 2000 al 30 junio 2003; de los cuales 20 (29.9%) fueron en el año 2000; 18 (26.9%) en el 2001; 22 (32.8%) en el 2002 y 7 (10.4%) en los primeros 6 meses del año 2003 hasta la fecha de cohorte; todos con fines de trasplante alogénico de CPH.

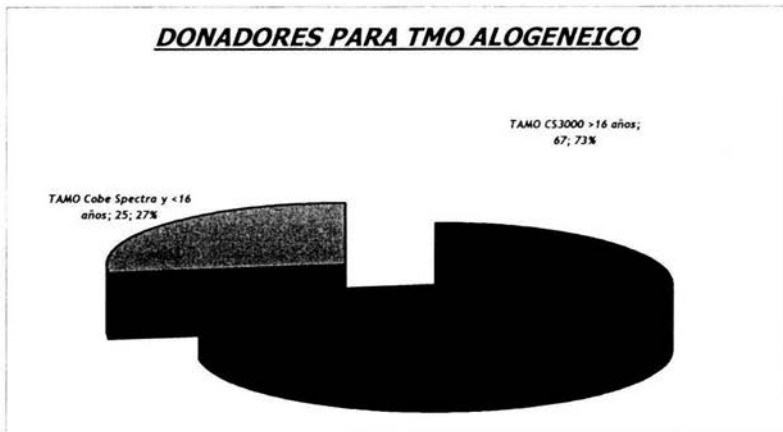


Gráfico 2: Total de procedimientos incluidos en este trabajo: realizados en la máquina CS3000 de Baxter en donadores sanos mayores de 16 años edad; y procedimientos no incluidos en nuestro análisis

En 18/36 (50%) donadores se logró una cosecha con cuenta de células CD34+ mayor a $2 \times 10^6/\text{Kg}$ en la primera aféresis y en 31 casos se realizó un 2° procedimiento logrando en 21 (67.74%) de estos una dosis de más de $2 \times 10^6/\text{Kg}$. de células CD34+. Cabe mencionar que en algunos casos solo contamos con la cuenta celular de una recolección por aféresis ya que en algunos de estos se realizó un segundo procedimiento en otro tipo de máquina por lo que no se incluyeron en este análisis; y de 11 procedimiento no contamos con el resultado obtenido de la cosecha por falta de cromógeno para determinación de CD34+ en

algunos casos realizados al inicio del programa en el año 2000 y por falta de registro del resultado en el expediente en los casos restantes.

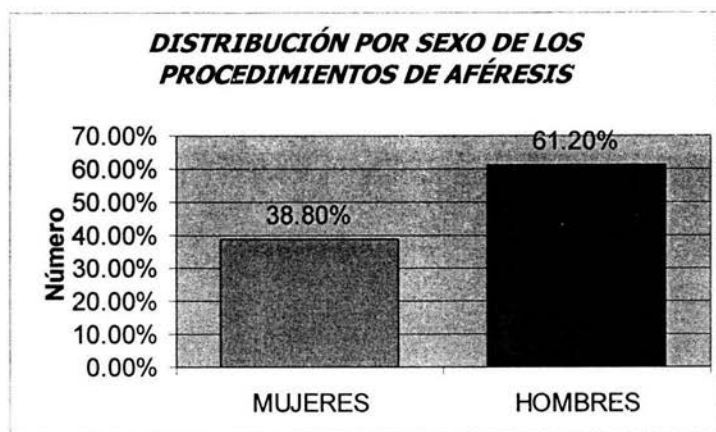


Gráfico 3: Procedimientos incluidos en el análisis (67) distribuidos según el sexo del donador

Se realizó el análisis de los expedientes en los 67 procedimientos para revisar los datos referentes al donador, a la aplicación de FEC-G y a la recolección de CPH (procedimiento de aféresis y cosecha). Los donadores tuvieron una edad promedio 32 años (rango 16-48 años); con 26 (38.8%) realizados en hombres y 41 (61.2%) en mujeres, lo que da un promedio de 1.52 procedimientos por donador varón y 3.72 por donadora mujer de forma aproximada; sin embargo este dato se ve sesgado ya que el segundo procedimiento se realizó en otra máquina (COBE Spectra) en algunos casos y no están dentro de este análisis.

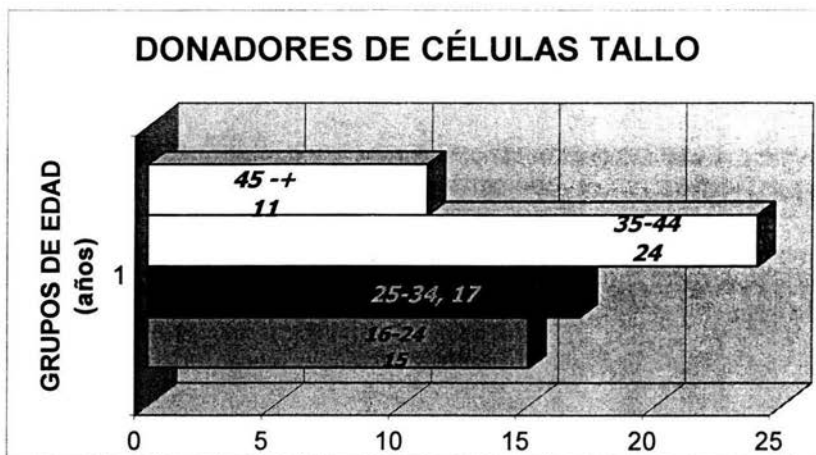
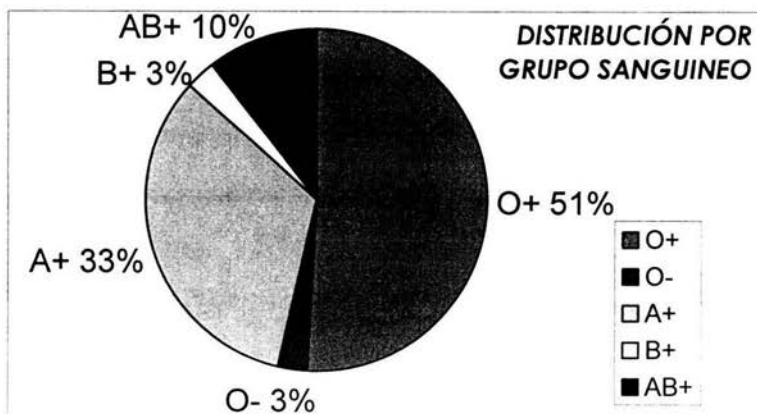


Gráfico 4: 67 procedimientos realizados en donadores sanos por grupo de edad

Con un peso promedio 85.5kg (rango 51-120kg); procesando el volumen sanguíneo total 2 veces en 32 casos; 2.5 veces en 2 casos y 3 veces en 33 casos; con un volumen promedio de 14,050ml con rango de 6,500-21,600ml por procedimiento. La frecuencia de grupo sanguíneo ABO fue en 47.76% (32) O, Rh+; 2.98% (2) O, Rh-; 10.44% (7) AB, Rh+; 38.8% (20) A, Rh+; y en 2.98% (2) A, Rh-.



Se realizó determinación de citometría hemática al donador previo a cada procedimiento de aféresis encontrando un promedio de hemoglobina de 14.85g/dL con rango de 12.1-17.6g/dL; con hematocrito de 34.9-50.7% (promedio 42.8%). La cuenta de leucocitos pre-aféresis fue de 15.7-79.5 con promedio de $47.6 \times 10^{12}/\mu\text{L}$ y no se encontró diferencia significativa en la hemoglobina y hematocrito entre hombres y mujeres, siendo más marcada la diferencia en la elevación de la cifra de leucocitos en las mujeres al día 5-6 de aplicación de FEC-G a $10\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$ como dosis estándar,

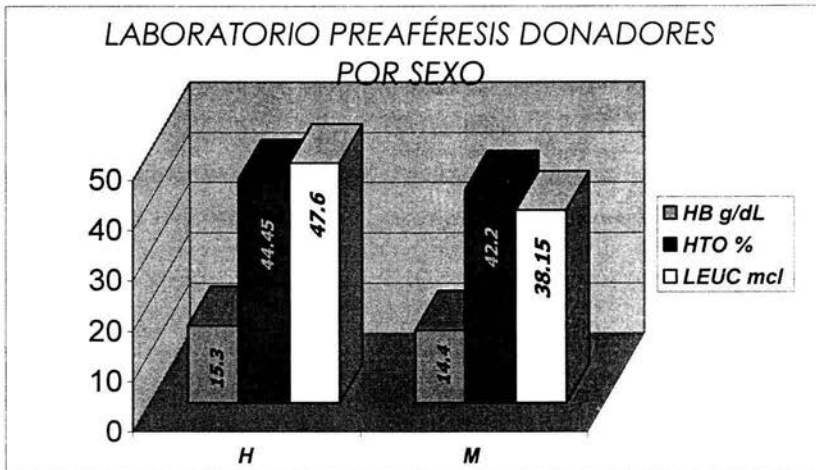


Gráfico 5: Promedio de la medición de laboratorio (hb, hto, leucocitos) previo a cada procedimiento de aféresis en los donadores sanos con aplicación de FEC-G $10\mu\text{g}/\text{Kg}$.

La incidencia de efectos adversos con la aplicación del FEC-G se presentaron en el 38.8% (26) de los cuales las mialgias fueron el síntoma más frecuente 38.8% (26); artralgias 35.82% (24); cefalea 17.91% (12); dolor óseo en 13.43% (9);

adinamia 8.95% (6); astenia 7.46% (5); fiebre 5.97% (4); malestar general y nausea en un 4.47% (3) cada una y diarrea en 1.49% (1).

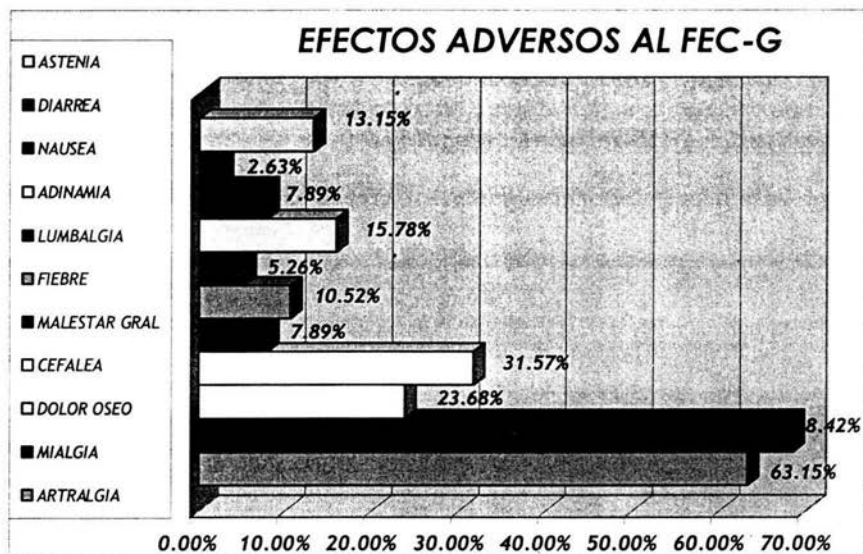


Gráfico 6: Efectos adversos referidos por los donadores en los 67 procedimientos con la aplicación del FEC-G 10µg/Kg./día

En el 49.25% (33) las recolecciones se realizaron al día 5 de aplicación de FEC-G; en 46.26% (31) al día 6 y en 1.49% (1) al día 7, ignorando el día exacto en 2 pacientes. Durante el procedimiento de aféresis se utilizó como anticoagulante el ACD con una relación de 10-13:1 y una velocidad de centrifuga desde 1000 a 1400 revoluciones por minuto. Con un offset de captación de la población de CPH de 140 establecido según el programa de recolección de la máquina CS3000.

DIA DE FEC-G EN CADA PROCEDIMIENTO DE AFÉRESIS

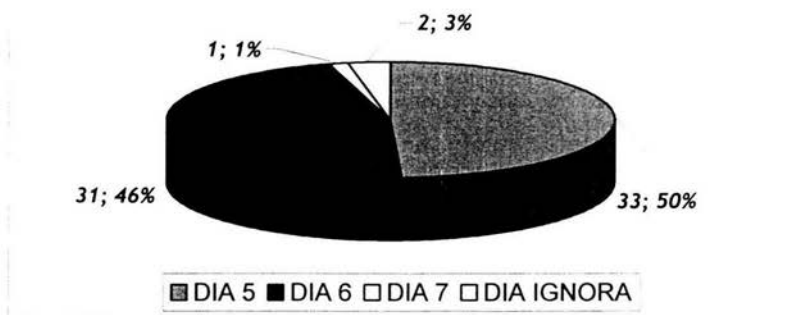


Gráfico 7: Día en que se realizó cada procedimiento de recolección de células tallo, tomando como día 1º el primer día de aplicación de FEC-G en cada donador.

En el 85.07% (57) de los casos la recolección se realizó por un acceso venoso periférico y en el 14.9% (10) por un acceso venoso por catéter central tipo Mahurkar. La duración del procedimiento fue de 150-413 minutos con un promedio de 281.5 minutos y se requirió la aplicación de calcio intravenoso en 28 (41.79%) de los casos. El volumen del producto (cosecha) obtenido fue de 40-240ml con promedio de 140ml; en algunos casos el producto se sometió a retiro de plasma por haber incompatibilidad ABO donador-receptor.

VIA DE ACCESO PROCEDIMIENTO DE AFÉRESIS

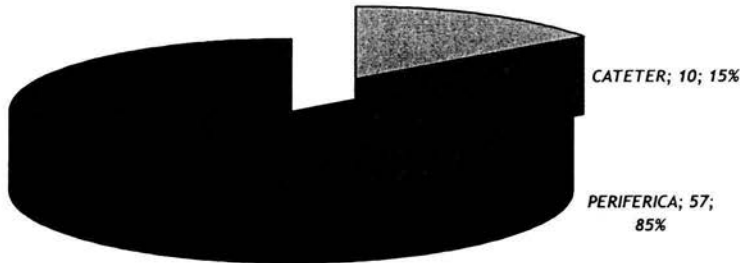
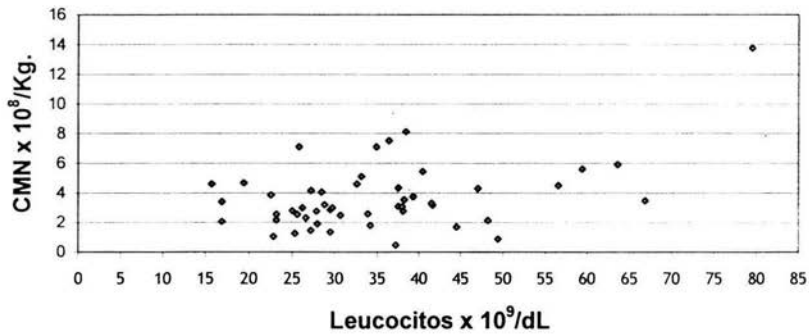


Gráfico 8: Vía de acceso venoso utilizada para los procedimientos, periférica: antebrazo o muñeca, o central: catéter Mahurcar por vía subclavia.

Se realizaron determinaciones de laboratorio a los productos obtenidos por aféresis (cosecha) para control de calidad encontrando: determinación de la hemoglobina del producto en 55 casos con un rango de 0.119-13.8g/dl., con promedio de 6.95g/dl., así como el hematocrito en 52 productos con un promedio de 20.48% (0.77-40.2%). La cuenta de leucocitos en el producto por biometría hemática se documentó en 57 casos con un rango de 36.9-730/dl., con promedio de 383.45/dl. Se obtuvo de 52 expedientes la cuenta de células mononucleares por kilogramo de peso del receptor con promedio de $7.15 \times 10^8/\text{Kg}$. peso con rango de $0.47-13.76 \times 10^8/\text{Kg}$.

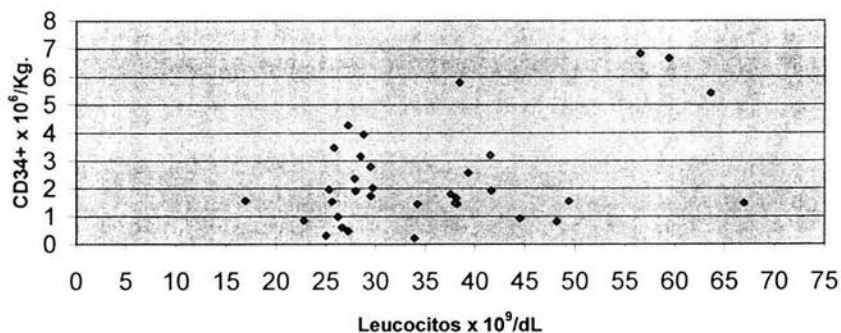
Del total de procedimientos (67) se cuenta con la cuenta de células CD34+ en 55 casos de los cuales en 16 se obtuvo menos de $1.5 \times 10^6/\text{Kg}$. de CD34+ por procedimiento y en 6 se obtuvo menos de $2 \times 10^6/\text{Kg}$. de CD34+ después de 2 procedimientos de aféresis en días 5 y 6 de aplicación de FEC-G.

CUENTA DE CMN EN EL PRODUCTO SEGÚN LA CIFRA DE LEUCOCITOS



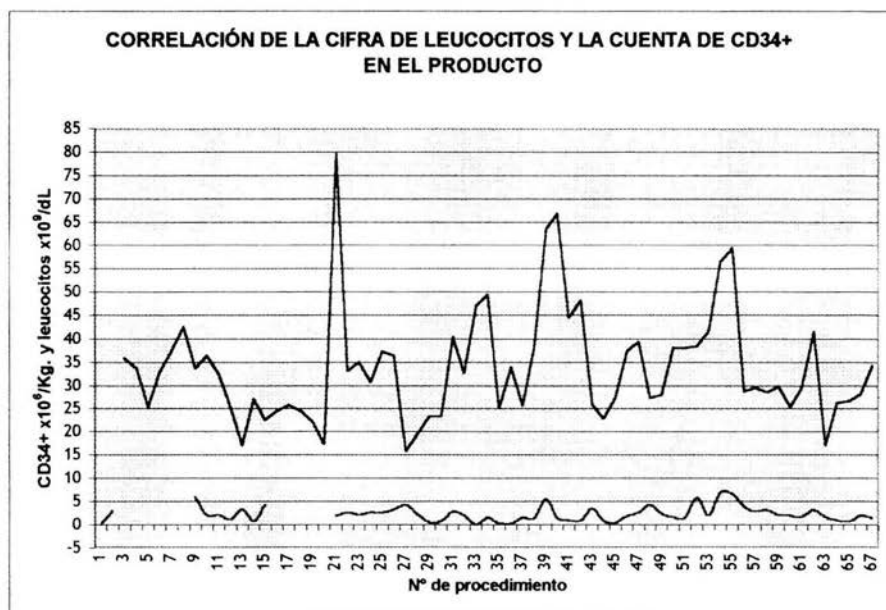
La cuenta de células CD34+ se obtuvo por citometría de flujo en 55 casos marcando las células con un cromógeno (ficoeritrina), con resultado promedio de $3.52 \times 10^6/\text{Kg.}$ de peso del paciente (receptor); con rango de $0.21-6.82 \times 10^6/\text{Kg.}$, hay que aclarar que la mayoría de los expedientes en quienes falta el dato son en los que la recolección se realizó en el año 2000 y aún no se contaba con el procedimiento de citometría en la unidad para la medición exacta.

CUENTA DE CD34+ EN EL PRODUCTO SEGÚN CIFRA LEUCOCITOS



Se realizó determinación del coeficiente de correlación entre la cifra de leucocitos y la cuenta de células CD34+ en el producto obtenido de cada procedimiento de aféresis encontrando los datos disponibles de ambas variables para analizar en 54 casos con una r de Pearson de 0.2514, con un intervalo de confianza de 95% (-0.01760-0.4865) con un valor de P 0.0667 no significativo tomando como una correlación significativa ($\alpha=0.05$), con una r cuadrada de 0.06321, esto evaluado con el programa Graph Pad Prism.

SSPS	Leucocitos	Células CD34+
Leucocitos correlación		
(r de Pearson)	1.000	0.251
Sign 2 tailed	.	0.067
N	65	54
Células CD34+ correlación		
(r de Pearson)	0.251	1.000
sign 2 tailed	0.067	.
N	54	54



La cuenta de plaquetas se recabó de 53 expedientes con un promedio de 4.8×10^{11} en la cosecha con un rango de $0.1-9.5 \times 10^{11}$ totales.

Se observó la viabilidad celular como control de calidad, con tinción de Azul de Tripano en microscopio óptico, esta tinción se realizó en 47 recolecciones realizadas a partir del año 2001, con un rango de 47-99% con promedio 73%, sin embargo el resultado se ve afectado porque en 3 casos (6.4%) la viabilidad fue menor al 90% y el resto (93.6%) de los casos la viabilidad fue adecuada con un promedio en este grupo de 96%.

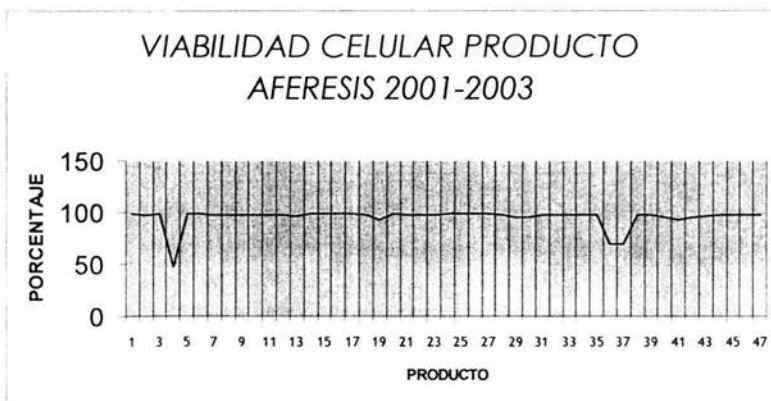
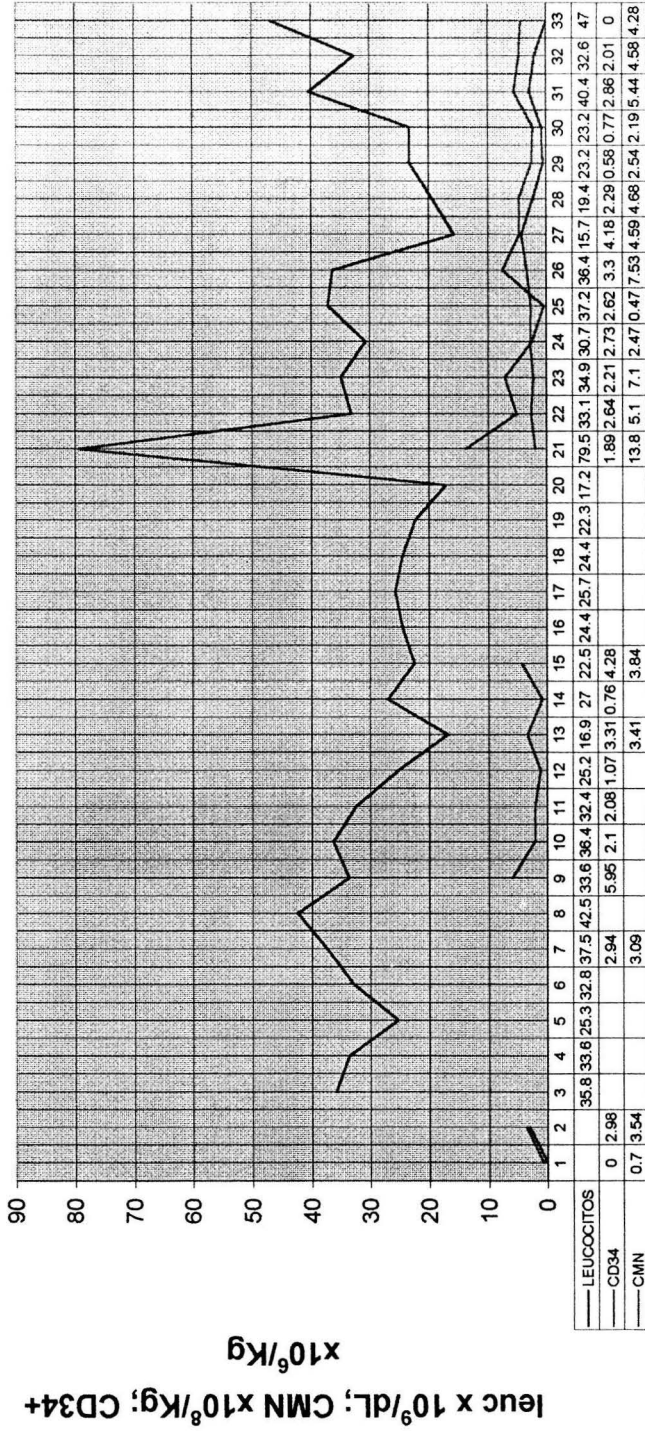


Gráfico 9: Viabilidad celular evaluada con Azul de Tripano en microscopio óptico: el 93.6% de los productos obtenidos a partir del 2001 estuvieron con viabilidad por arriba del 90% y solo en 3 (6.4%) casos la viabilidad fue menor.

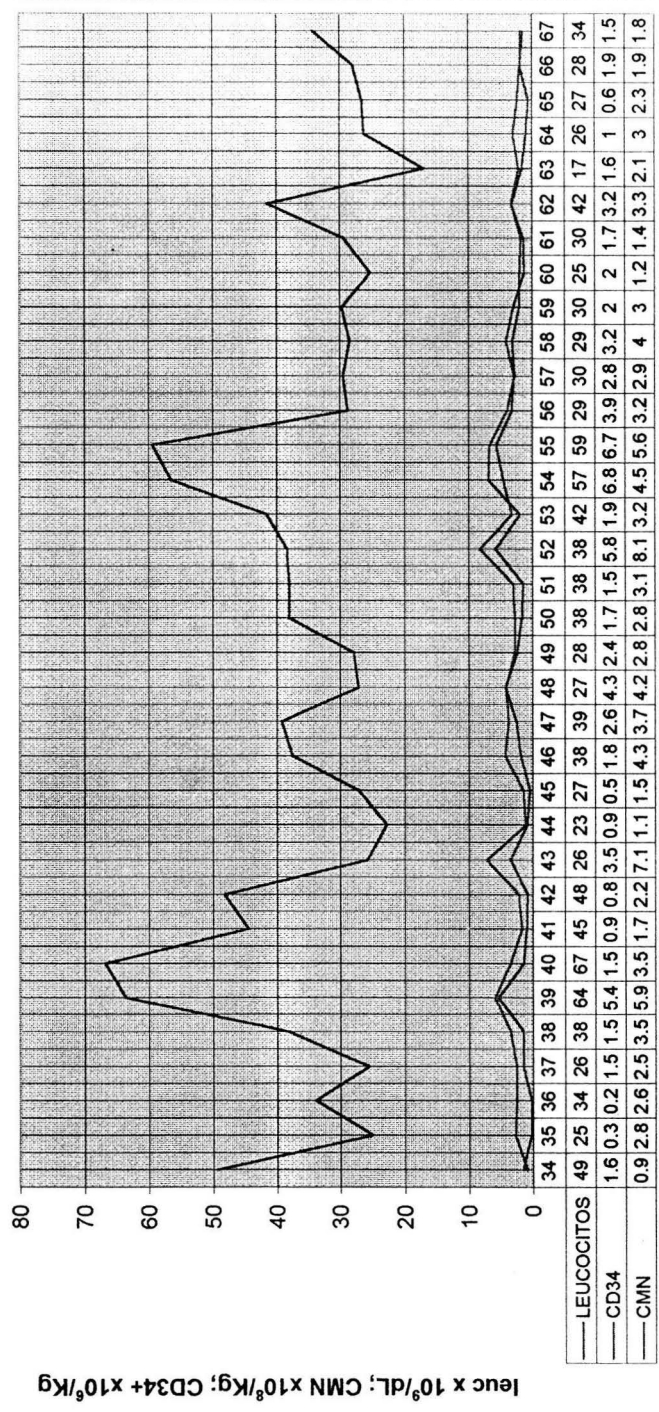
La presentación de efectos adversos ocurrió en 24 casos 35.8% de los cuales 11 (45.8%) fueron por problema técnico (flujo insuficiente, venas difíciles, hematoma local) y 13 (54.2%) por otras causas (hipotensión, parestesias, tetania, fiebre, vómito, náuseas).

CORRELACIÓN LEUCOCITOS PRAFÉRESIS EN EL DONADOR CON CIFRA CMN Y CD34+



N° procedimiento

CORRELACIÓN LEUCOCITOS PREAMFÉRESIS EN EL DONADOR CON CIFRA CMN Y CD34+



N° procedimiento

leuc x 10⁹/dL; CMN x 10⁸/kg; CD34+ x 10⁶/kg

DISCUSION

Actualmente la obtención de CPH de sangre periférica de un donador sano con fines de trasplante es un estándar mundial con una adecuada reconstitución hematopoyética. La utilización de citocinas como el FEC-G es un procedimiento seguro tanto para el paciente como para el donador con estudios de seguimiento de hasta 8 años sin evidencia de efectos adversos en la hematopoyesis de donadores sanos. A partir del año 2000 se inició en el Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI el programa de recolección de CPH de sangre periférica con fines de trasplante, utilizando FEC-G a dosis estándar aceptada de $10\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$ en donadores sanos en una sola aplicación por vía subcutánea con adecuada tolerancia del mismo. Se realiza en donadores pacientes para procedimientos para trasplante autólogo y en donadores sanos para los procedimientos alogénicos.

Los efectos adversos encontrados en la literatura relacionados a la aplicación de FEC-G para movilización previa al procedimiento de aféresis han sido leves con solo reportes anecdóticos de ruptura esplénica con manejo conservador de esta; en nuestro análisis en 38.8% de los procedimientos se presentó principalmente mialgias, artralgias y dolor óseo sin efectos adversos graves. Hasta el momento en los estudios actuales no se ha encontrado aumento de leucemogénesis por el uso de dicha citocina con seguimientos de hasta 8 años; en nuestra población no se ha reportado casos de este tipo. Nuestra población se compuso principalmente por hombres en un 60%; el número de procedimientos fue mayor en las mujeres

3.7 vs hombre 1.57 procedimientos por donador hombre; sin embargo, algunos donadores se sometieron a un segundo procedimiento en otro sistema de aféresis sin incluirse al actual estudio, por lo que dicha conclusión no es definitiva. La productividad fue de un promedio de 20 procedimientos por año para procedimientos alogénicos en el sistema Fenwall CS3000.

En la literatura se reporta que de 4-20% de los donadores sanos pueden ser pobres movilizadores con cosechas de células CD34+ de $< 1 \times 10^6/\text{Kg}$. tomadas como producto no apto para trasplante, obteniendo frecuencia similar en nuestra población con un 14% de productos menores de dicha cifra con un procedimiento de aféresis.

En los laboratorios previos a los procedimientos de aféresis, la hemoglobina y hematocrito no tuvieron diferencia significativa en ambos sexos; la cifra de leucocitos fue mayor en hombres que en mujeres con la misma dosis de FEC-G, La mitad de los procedimientos se realizaron después de 5 dosis de FEC-G y el resto en el día 6 del mismo. La duración promedio del procedimiento fue de 3 horas y el volumen del producto fue de 40-240ml, en algunos casos se sometió a retiro de plasma por incompatibilidad ABO en donador y receptor.

No se observó correlación entre la cifra de leucocitos en el donador previo al procedimiento de aféresis y la cifra de células mononucleares y de células CD34+ en el producto de aféresis posterior a cada procedimiento.

Dentro del análisis en nuestro estudio encontramos resultados similares a los reportados en la literatura tanto relacionados a la aplicación de Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos con incidencia similar de efectos adversos y tolerancia a la aplicación del mismo, sin reportarse ruptura esplénica en ningún caso. Del mismo modo se encontró un porcentaje similar de pobres movilizadores, así como de cifra de Células Mononucleares y CD34+ en el producto.

Es necesaria una evaluación más amplia ya que se cuenta con diferentes sistemas de aféresis para recolección de células progenitoras hematopoyéticas con fines de trasplante, además de que el programa abarca pacientes movilizados con quimioterapia con altas dosis con uso de citocinas de forma secuencial en procedimientos autólogos

Falta página

N° 48

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN 3 SUROESTE DEL DISTRITO FEDERAL
BANCO CENTRAL DE SANGRE, CMN SIGLO XXI

CONSENTIMIENTO INFORMADO
DONADOR DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS(CPHs)

PROCEDIMIENTO

Las Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPHs) son células que se encuentran en el organismo y pueden ser obtenidas de la sangre por medio de un procedimiento que se denomina aféresis, esto es se realiza a través de una maquina separadora de células. Para obtener las CPHs movilizarlas o libertarlas de la medula ósea en donde se producen y se encuentran en gran cantidad es necesario administrar medicamentos que permitan producir un mayor numero de CPHs que sirvan para controlar la enfermedad con la esperanza de curarla por medio del transplante de estas células.

En caso de que usted acepte donar sus CPHs será necesario recibirán medicamento llamado Factor Estimulante de Colonias de granulocitos (FEC-G) el cual será administrado en esta unidad o en el hospital de donde usted es referido. El medicamento se administra por vía subcutánea por 5 días antes de recolectar las CPHs para aumentar el numero de estas células y obtenerlas por medio de la maquina de aféresis.

El día de la recolección de las CPHs de la sangre periférica estas serán obtenidas en el servicio de aféresis del Banco Central de Sangre, se obtendrán a través de una vena de cada brazo o a través del catéter que fue colocado en el hospital. La sangre es extraída, procesada a través de la maquina y los glóbulos rojos regresaran por la otra vena. Este procedimiento tendrá una duración de aproximadamente 3 o4 horas. Será necesario para alcanzar una dosis adecuada de CPHs que este procedimiento se deberá realizar de una o dos sesiones y en algunos casos hasta tres procedimientos deberán de realizarse.

POSIBLES RIESGOS Y BENEFICIOS.

1. El FEC-G puede producir molestias similares a la gripa como dolor de cabeza, cansancio, dolor muscular y óseo, en algunas ocasiones fiebre, urticaria, nausea y vomito. Para reducir estas molestias usted recibirá un analgésico llamado paracetamol, esto efectos adversos del medicamento es transitorios.
2. El medicamento producirá un aumento de los leucocitos (Glóbulos blancos) para aumentar las CPHs
3. El procedimiento de aféresis puede producir algunos efectos adversos entre ellos dolor en el sitio de la punción, efectos por el anticoagulante empleado como son hormigueo en los labios, el cual es transitorio y sin problemas.

Iniciales del donador y/o paciente: _____

TRATAMIENTO ALTERNATIVO:

Existe otro tratamiento para evitar la recolección de CPHs de sangre periférica por medio del aspirado de medula ósea, el cual se debe de realizar en el quirófano bajo anestesia general, con múltiples punciones en el hueso pélvico para obtener la medula ósea.

CONFIDENCIALIDAD:

Cualquier información obtenida será confidencial, al firmar este consentimiento la permite a los médicos hacer uso de la información del expediente ante las autoridades de la unidad que requieran por ley esta información.

RESPUESTA A SUS DUDAS

Cualquier duda relacionada al procedimiento realizado en esta unidad (medicamento y aféresis) no dude en comunicárnoslas a los siguientes teléfonos:

_____ Teléfono: 56-27-69-00 ext 2618
Dr. Sandra Quintana Gonzáles
_____ Teléfono: Ext 2609
Dr. Carlos Martínez Murillo

Su participación en este procedimiento es totalmente voluntaria y libre de rechazar a cualquier momento que usted lo decida.

Él medico me ha explicado y detallado todas mis dudas relacionadas al procedimiento y estoy de acuerdo en participar en la recolección de Células Progenitora

HEMATOPOYETICAS (CPHs) para Transplante Autólogo Alogénico para mi paciente:

_____ Quien se encuentra en tratamiento en el Hospital:
_____ debido a una enfermedad llamada:

_____ y que este procedimiento es una alternativa para superar la enfermedad.

AUTORIZA

_____ Nombre y firma del Donante

Fecha: _____

_____ Nombre y firma de un Testigo

Fecha: _____

Parentesco: _____

_____ Nombre y Firma del Médico Responsable

Fecha: _____

BANCO CENTRAL DE SANGRE CMN SXXI
HISTORIA CLINICA TRASPLANTE DE MEDULA OSEA
DONADOR

FICHA DE IDENTIFICACION

NOMBRE: _____
EDAD: _____ SEXO: _____
ESTADO CIVIL: _____ RELIGION: _____
ESCOLARIDAD: _____ OCUPACION: _____
FECHA DE ESTUDIO: _____

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

ENF. CRONICO-DEGENERATIVAS: _____

NEOPLASIAS: _____

ENF. HEMATOLOGICAS: _____

OTROS: _____

RECEPTOR DEL TMO: _____ EDAD: _____
DX: _____ TIEMPO EVOLUCION: _____
TRATAMIENTO RECIBIDO: _____
TRATAMIENTO ACTUAL: _____

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLOGICOS

MEDIO SOCIOECONOMICO: _____
TIPO DE VIVIENDA: _____
HIGIENE: _____ ALIMENTACION: _____
TOXICOMANIAS : _____

INMUNIZACIONES RECIENTES: _____

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLOGICOS

ENF. COMUNES EN LA NIÑEZ: _____
ENDOCRINO, CARDIOPULMONAR, RENAL, HEMATOLOGICOS, NEOPLASIAS Y OTROS: _____

QUIRURGICOS: _____ TRANSFUSIONALES: _____
TATUAJES, ACUPUNTURA, PERFORACIONES: _____
HEPATITIS Y OTRAS INFECCIONES: _____

ANTECEDENTES GINECOOBSTETRICOS

MENARCA: _____ RITMO: _____ FUR: _____
IVSA: _____ G: _____ P: _____ C: _____ A: _____ FUP: _____
DOC: _____ COMPANEROS SEXUALES EN ULTIMO AÑO: _____
VIOLACION: _____ ENFERMEDADES VENEREAS: _____
OTROS ANTECEDENTES DE RIESGO: _____

ESTADO ACTUAL: _____

EXPLORACION FISICA

HABITO EXTERIOR: _____

CRANEO Y CARA: _____

CUELLO: _____

TORAX ANTERIOR Y POSTERIOR : _____

ABDOMEN: _____

OTROS: _____

CALIDAD DE LAS VENAS: _____

PLAN:

1. SE SOLICITA SEROLOGIA PARA: VIH _____ VHC _____ AgsHB _____ VDRL _____
TOXOPLASMA _____ CITOMEGALOVIRUS _____
2. SE SOLICITA: BHC _____ GRUPO Y RH _____ INMUNOFENOTIPO _____
AC ANTIERITROCITARIOS _____ LINFOCITOTOXICIDAD _____
LEUCOAGLUTINACION _____
3. QUEDA PENDIENTE LA PROGRAMACION PARA REALIZAR MOVILIZACION DE CPH'S Y SU RECOLECCION
UNA VEZ QUE SE COMPLETEN LOS ESTUDIOS PARA DONADOR Y PACIENTE.

DR(A): _____

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
 DELEGACIÓN 3 SUROESTE DEL DISTRITO FEDERAL
 BANCO CENTRAL DE SANGRE, CMN SIGLO XXI
 SERVICIO CLINICO II

RECOLECCION DE CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS (CPHs)

Datos Generales:

NOMBRE DEL PACIENTE: _____ No. AFILIACIÓN: _____

EDAD: _____ SEXO: F M HOSPITAL DE ENVIO: HECMN HOCMN HPCMN

DIAGNOSTICO: _____ TIEMPO EVOLUCION: _____

NOMBRE DE DONADOR: _____ SEXO: F M

EDAD: _____ TIPO DONADOR: RELACIONADO NO RELACIONADO

RECOLECCION CPHs: SP MO CU TIPO DE TRASPLANTE: ALOGENICO AUTOLOGO

FECHA RECOLECCION: PRIMERA : _____ SEGUNDA: _____ TERCERA: _____

ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN:

PACIENTE (en caso de autólogo): _____

DONADOR/PACIENTE : FEC-G (Filgrastim): 5 µg/Kg/día 10 µg/Kg/día 16 µg/Kg/día

Número de Días: _____

Reacciones: SI NO

Tipo de Reacción (especifique): _____

Datos Paciente:

PESO: _____ Kg AGO: G _____ P _____ C _____ A _____ FUP _____ EHRN _____

ANTECEDENTES TRANSFUSIONALES: SI NO Reacciones Transfusionales SI NO

TIPO DE REACCION: _____

FUT: _____

Datos Donador :

PESO: _____ Kg. AGO: G _____ P _____ C _____ A _____ FUP _____ EHRN _____

ANTECEDENTES TRANSFUSIONALES: SI NO

HLA	-A	-B	-C	-DRB	-DQB1	-DPB1
PACIENTE						
DONADOR						

GRUPO SANQUINEO	ABO	Rh (D)
PACIENTE		
DONADOR		

INMUNOFENOTIPO	COOMBS	ANTICUERPOS	FENOTIPO
	DIRECTO	LIBRES	
PACIENTE			
DONADOR			

LEUCOCITOS	LINFOCITOTOXICIDAD	Ac ANTILEUCOCITOS
PACIENTE		
DONADOR		

SEROLOGIA	VHB	VHC	VIH	VDRL	CMV		TOXOPLASMA		VEB	
					IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
PACIENTE										
DONADOR										

PROCEDIMIENTO:

BHC: PACIENTE DONADOR

B.H.C.	Hb/Hto	Leucocitos	Neutrófilos %	Linfocitos %	Monocitos %	Eosinófilos %	Basófilos %	Plaquetas
1° (Basal)								
2° (3er día)								
3° (Rec. 1)								
4° (Rec. 2)								

PROCEDIMIENTO 1:

FECHA: _____

MAQUINA: CS-3000 SPECTRA AMICUS

VIA DE EXTRACCIÓN: VENA PERIFERICA CATETER

VELOCIDAD DE EXTRACCIÓN: _____ ml/mm OFFSET: _____

VOLUMEN DE COSECHA: _____ ml TIEMPO COSECHA: _____

VELOCIDAD DE CENTRIFUGACION: _____ rpm

REACCIONES DURANTE EL PROCEDIMIENTO: SI NO

INICIO DE LA REACCION: DURANTE FINAL POSTERIOR

TIPO DE REACCION (especifique): _____

RECIBIO TRATAMIENTO: SI NO

TIPO DE TRATAMIENTO (especifique): _____

CD34, CD45 y VIABILIDAD:

RECOLECCION	CD34/Kg paciente x 10 ⁶	CD45 (No. Células)	Viabilidad %
Primera			
Segunda			
Tercera			

BIBLIOGRAFIA

1. Körbling M, Anderlini P. Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: does the source of hematopoietic stem cells matter?. Blood 2001;98(10);2900
2. Sans-Sabrafen J. Besses C. Vives J. Castillo R. Woessner S. Hematología clínica 4ta ed. Madrid España. Harcourt, 2002
3. Hoffman R. Benz E. Shattil S. et all. Hematology basic principles and practice 3ra ed. Philadelphia. Churchill Livingstone, 2000
4. Beutler E. Lichtman M. Collier B et all. Williams Hematology 6ta ed. Estados Unidos de América. McGraw-Hill, 2001
5. Lee R, Forester J, Lukens J et all. Wintrobe's Clinical Hematology 10a ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1998
6. A. Kessinger and JG Sharp. The whys and how of the hematopoietic progenitor and stem cell mobilization. Bone Marrow Transplant 2003;31;319
7. Rowley SC, Philips G. JACIE Standards from the Joint Accreditation Committee of Ishaq-Europe and EBMT. Mayo 1999

8. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Secretaría de Servicios de Salud. Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea
9. Heldal D, Brinch L, Tjonnfjord et al. Donation of stem cell from blood or bone marrow: results of a randomized study of safety and complaint. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29:479
10. Schmitz N, Barret J. Optimizing engraftment-source and dose of stem cells. *Semin Hematol* 2002; 39(1);3
11. Moncada V, Bolan Ch, Yau Y, Leitman S. Análisis of PBPC cell yields during large-volume leukapheresis of subjects with poor mobilization response to filgrastim. *Transfusion* 2003;43;495-501
12. De Fabritis P, Iori A, Mengarelli A et al. Healthy sibling donor anxiety and pain during bone marrow or peripheral blood stem cell harvesting for allogeneic transplantation: results of a randomized study. *Bone Marrow Transpl* 2002;29;145-149
13. Switzer GE, Goycoolea JM, Dew MA, Graeff EC, Hegland J. Donating stimulated peripheral blood stem cells vs bone marrow: do donors

experience the procedures differently?. Bone Marrow Transplant
2001:27;917-923

14. Fortanier C, Kuentz M, Sutton L et al. Healthy sibling donor anxiety and pain during bone marrow or peripheral blood stem cell harvesting for allogeneic transplantation: results of a randomized study. Bone Marrow Transplant 2002:29;145-149

15. Sohn SK, Kim JG, Seo KW et al. GM-CSF-based mobilization effect in normal healthy donors for allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 2002:30;81

16. Kröger N, Renges H, Sonnenberg S et al. Stem cell mobilization with 16µg/kg vs 10µg/kg of G-CSF for allogeneic transplantation in healthy donors. Bone Marrow Transplant 2002:29;727

17. Stroncek D, Shawker Th, Follmann D, Leitman S. G-CSF-induced spleen size changes in peripheral blood progenitor cell donors. Transfusion 2003:43(5);609

18. Anderlini P, Chan FA, Champlin RE, Körbling M, Strom SS. Long-term follow-up of normal peripheral blood progenitor cell donors treated with

filgrastim: no evidence of increased risk of leukemia development. Bone Marrow Transplant 2002;30;661

19. Demirer T, Dagh M, Ilhan O et al. A randomized trial of assessment of efficacy of leukapheresis volumes 8 liters vs 12 liters. Bone Marrow Transplant 2002;29;893

20. Bolan Ch, Carter Ch, Weslwy R et al. Prospective evaluation of cell kinetics yields and donor experiences during a single large-volume aphaeresis versus two smaller volume consecutive day collections of allogeneic peripheral blood stem cell. Br J Hematol 2003;120(5);801

21. Tichelli A, Passweg J, Hoffmann T et al. Repeated peripheral stem cell mobilization in healthy donors: time-dependent changes in mobilization efficiency. Br J Hematol 1999;106(1);152

22. De la Rubia J, Arbona C, De Arriba F et al. Analysis of factor associated with low peripheral blood progenitor cell collection in normal donors. Transfusion 2002: 42;4-9

23. Rowley S, Prather K, Bui K, Appel M, Felt T, Bensinger W. Collection of peripheral blood progenitor cells with an automated leukapheresis system. Transfusion 1999;39;1200

24. Kazuhiko I, Hitoshi O, Kenji N et al. Collection of MNCs and progenitor cells by two separators for PBPC transplantation: a randomized crossover trial. *Transfusion* 2003;43(6):814
25. Mehta J, Singhal S, Gordon L, Tallman M et al. Cobe Spectra is superior to Fenwall CS 3000 Plus for collection of hematopoietic stem cells. *Bone Marrow Transplant* 2002;29;563
26. Gutenshon K, Carrero I, Krueger N et al. Semi-automated flow cytometric analysis of CD34-expressing hematopoietic cells in peripheral blood progenitor cell aphaeresis products. *Transfusion* 1999;39;1220
27. Hardman J, Limbrid L, Molinoff P, Ruddon R, Goodman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª. Ed. 1996. McGraw-Hill Interamericana.
28. Burger S.R, Kadidlo D, McCullogh. Improved progenitor assay standardization using peripheral blood progenitor cells from a donor treated with granulocyte-colony-stimulation factor. *Transfusion* 1999;39;451