

# Recolección de Células Hematopoyéticas de Sangre Periférica

J. Fernández #°, S. Fridman°,  
B. Koziner #

# Unidades de Trasplante de Médula Osea del Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Norberto Quirno" (CEMIC) y la Fundación para la Lucha Contra las Enfermedades Neurológicas de la Infancia - Instituto de Investigaciones Neurológicas "Raúl Correa" (FLENI)  
° Servicio de Hematología y Hemoterapia de CEMIC

Correspondencia: Dr. José Fernández, Unidad de Trasplante de Médula Osea,  
CEMIC Saavedra,  
Galván 4102, (1431) Buenos Aires/Argentina



ARTICULO  
ESPECIAL

HEMATOLOGIA, Vol. 3 N° 1: 16-23  
Enero - Abril, 1999

## INTRODUCCION

Desde inicios de la década del 80, la recolección de células progenitoras hematopoyéticas provenientes de sangre periférica (CPHSP), con el objetivo de reconstituir la función medular luego de quimioterapia mieloablata, se ha convertido progresivamente en una metodología de aplicación clínica rutinaria. En Europa, mientras que en 1991 81% de los trasplantes autólogos utilizaban médula ósea, en 1994 el 71% se realizaron con CPHSP<sup>1</sup>. Este porcentaje se incrementó al 90% en 1996 (2). Actualmente, las CPHSP constituyen la fuente convencional de células autólogas y cada vez más de células alogénicas. Según el registro europeo (EBMT), en 1996 el 30% de los trasplantes alogénicos se efectuaron utilizando dicha fuente<sup>2-6</sup>.

Inicialmente se plantearon múltiples interrogantes respecto del uso de CPHSP para la reconstitución medular debido al tiempo prolongado necesario para obtenerlas, con necesidad de numerosas aféresis<sup>7</sup> y el consiguiente incremento de gasto y tedio para paciente, técnicos y médicos encargados del procedimiento, que resultaba en el aumento significativo de los productos a criopreservar y la necesidad de infundir grandes volúmenes y exceso de dimetil sulfóxido (DMSO). Otro planteo fue la dudosa capacidad de las CPHSP para reconstituir la hematopoyesis a largo plazo debido que se consideró que estas células, en su gran mayoría, se hallaban ya comisionadas<sup>8,9</sup>. Con el transcurrir del tiempo fueron utilizadas diversas estrategias para resolver estas dificultades. Las más destacables incluyeron la implementación de aféresis de grandes volúmenes

con el objeto de reducir el número de procedimientos y sus costos<sup>10-12</sup>, y la administración pre-aféresis de quimioterapia y/ o factores estimulantes con el objetivo de movilizar una cosecha celular mucho mayor de CPHSP<sup>13, 14</sup>. Ambas estrategias resultaron eficaces, provocando una dramática reducción en el número de aféresis, en el volumen infundido y en el costo económico y técnico, resultando en una aceptación de este tipo de recolección como fuente de CPHSP<sup>1, 2</sup>. El inóculo celular necesario para trasplante se obtiene en general con un promedio de dos aféresis, habitualmente con el paciente ambulatorio<sup>15</sup> y sin la necesidad de anestesia general o bloqueos nerviosos. Numerosos estudios han demostrado que el uso de CPHSP resulta en una recuperación hematológica más pronta con disminución de los días de neutropenia y plaquetopenia, descenso de la morbimortalidad, reducción de las medidas de soporte e internaciones menos prolongadas, especialmente si la dosis de CD34+ infundida es igual o mayor a  $5 \times 10^6$ /kg. de peso del receptor<sup>16-23</sup>.

No nos referiremos en esta revisión a las diferentes estrategias de movilización de CPHSP, tema tratado en esta misma revista recientemente<sup>24</sup> sino a las características y preparación del donante autólogo y alogénico, a las particularidades de los diferentes separadores celulares utilizados para la recolección de CPHSP, y a aspectos técnicos incluyendo las complicaciones, observadas más comúnmente en los procedimientos de aféresis. Por último, se realizarán consideraciones en cada ítem acerca de recolecciones en niños, especialmente aquellos de bajo peso.

## CARACTERISTICAS Y PREPARACION DEL DONANTE AUTOLOGO O ALOGENICO DE CPHSP.

Algunas organizaciones han desarrollado guías basadas en consenso para la evaluación de los futuros donantes de CPHSP. Las de mayor predicamento en este punto son la BCSH Blood Task Force in the United Kingdom<sup>25</sup>, la American Association of Blood Banks<sup>26</sup> y la Foundation for the Accreditation of Hematopoietic Cell Therapy (FACHT) en USA y Canadá<sup>27</sup>.

Describiremos en forma sumaria las guías desarrolladas por las tres organizaciones mencionadas, con agregados requeridos por las normas de nuestro país:

- 1- Historia clínica y pruebas de laboratorio iniciales que incluyan hemograma, recuento de plaquetas, glucemia, iones en sangre, y calcemia realizados previos a cada recolección.
- 2- Para donantes alogénicos, la historia clínica debe incluir información acerca de vacunaciones, transfusiones, embarazos, y conductas de riesgo para enfermedades transmisibles por sangre. Además de los estudios previos de laboratorio se determinarán dentro de los 30 días anteriores: anti HIV 1-2, P24, anti HTLV, HbsAg, anti HBc, anti HCV, anti CMV, Elisa para Chagas, VDRL y Huddleson. Estos exámenes deben realizarse siempre antes de iniciar el acondicionamiento en el receptor. No debe omitirse el grupo ABO y el factor Rh como tampoco la detección de anticuerpos irregulares.
- 3- Los hallazgos anormales deben ser transmitidos al futuro donante, no implicando que dicha anomalía lo invalide como tal. No obstante debe documentarse el motivo de su selección y se requiere el consentimiento informado tanto de donante como receptor.
- 4- Es imprescindible el consentimiento informado para el procedimiento de recolección y dicho procedimiento debe ser explicado en términos que el donante pueda comprender.
- 5- El suministro de citoquinas debe hallarse bajo la supervisión de un médico experimentado.
- 6- Debe valorarse siempre la necesidad o no de colocación de un catéter venoso central. De colocarse, debe hacerlo un médico calificado para dicho procedimiento. Debe documentarse radiográficamente su adecuado emplazamiento. Debe intentarse bajo todos los medios no colocar un catéter al donante alogénico, a efectos de no agregar morbimortalidad a una persona sana. De completarse, bajo supervisión médica, un formulario con los detalles del procedimiento de recolección.
- 7- Un médico experimentado deberá supervisar el procedimiento de recolección celular.

- 8- Las células deben ser almacenadas en bolsas de transferencia aprobadas para células humanas. Según el grupo italiano, los donantes alogénicos de CPHSP no debieran sobrepasar recuentos de leucocitos de  $50 \times 10^9/L$  a causa del posible riesgo de causar trombosis<sup>28</sup>.

## CATETERES

Se considera que aproximadamente el 70-100% de los donantes autólogos<sup>29</sup> y el 10 % de los alogénicos<sup>30</sup>, tienen accesos venosos periféricos inadecuados y requieren la colocación de un catéter para recolecciones satisfactorias que permitan flujos continuos o discontinuos de 70 ml por minuto de promedio y para algunos separadores de hasta 130-140 ml por minuto de flujo máximo. Existen variados tipos de catéteres que pueden ser utilizados. William Haire e Irena Sniecinski han publicado recomendaciones respecto a la colocación de catéteres y profilaxis anti-trombótica<sup>31</sup>. En su revisión los autores refieren: 1) implantar catéter siliconado de doble lumen cuando se utilicen máquinas de aféresis de flujo continuo, 2) implantar catéter de simple lumen siliconado cuando se utilicen máquinas de flujo discontinuo o cuando se use una vía periférica para el retorno. En ambos casos el extremo distal del catéter debe posicionarse en el tercio inferior de la vena cava superior.

Otros autores relatan muy baja incidencia de complicaciones colocando catéteres de poliuretano solamente por el período que dure la recolección, utilizando la técnica de punción y delimitando la yugular interna, preferentemente derecha, por Doppler<sup>32</sup>. Algunos autores no recomiendan el implante de catéter en vena cava inferior<sup>29</sup> y otros sí la prefieren<sup>33</sup>. De todas maneras el uso de esta vía no constituye una práctica usual. Si la trombosis relacionada al catéter subclavio constituye un problema potencial, recomiendan, de no existir contraindicaciones, administrar aspirina a dosis de 325 mg/día y que debe suspenderse al finalizar la recolección<sup>31</sup>; de utilizarse catéteres subclavios y citoquinas durante la movilización, los autores recomiendan el uso de 1 mg. diario de warfarina desde 48 horas antes de la colocación del catéter y hasta su retiro o el inicio del acondicionamiento<sup>31</sup>. No obstante, existen publicaciones que sólo relacionan al GM-CSF y no al G-CSF con la oclusión del catéter<sup>34-36</sup>.

Convencionalmente la heparina sódica diluida en solución salina es utilizada para prevenir la oclusión trombótica del catéter, a pesar que no existan estudios que demuestren su beneficio. Stephens LC y col.<sup>37</sup> demostraron en catéteres siliconados, Hickman, 13,5 F, doble lumen, que no existe diferencia en disminución del flujo a menos de 50 ml/minuto, uso de

trombolíticos o evidencia radiográfica de oclusión del catéter entre la infusión de heparina sódica diluida o la sola infusión de solución salina.

## ANTICOAGULACION EN EL PROCEDIMIENTO

La anticoagulación durante la aféresis se realiza rutinariamente con ACD-A (citrate de sodio, ácido cítrico, dextrosa) Fórmula A<sup>38</sup>. La heparina se utiliza raramente y su uso se restringe a pacientes con alergia o marcada intolerancia al citrato; no obstante algunos equipos utilizan combinaciones de ACD-A y heparina. El mayor efecto colateral del citrato es la hipocalcemia (a la cual nos referiremos más adelante en el ítem COMPLICACIONES), que puede intentar prevenirse con el suministro de carbonato o citrato de calcio suministrado desde 24 hs. antes del procedimiento de aféresis.

La anticoagulación se obtiene con una mezcla de sangre y ACD en una relación de 10:1 a 15:1, dependiendo fundamentalmente del hematocrito del paciente. Los pacientes adultos reciben por procedimiento de aféresis de largos volúmenes de 1 a 2 L de solución de ACD-A dependiendo de la volemia y de la cantidad de éstas procesadas. Esto resulta en una marcada reducción de los niveles de calcio, fundamentalmente iónico<sup>31, 39</sup>, con una reducción promedio del 18% de su concentración en la primera hora de aféresis, y con una también marcada caída del ion fosfato al final del procedimiento, no constatándose diferencias en los procedimientos con Cobe Spectra y Fenwall- CS 3000<sup>39</sup>. Los niveles de calcio iónico habitualmente se normalizan dentro de las primeras 2 hs. de finalizada la infusión del quelante. No obstante, en casos excepcionales hemos observado pacientes con síntomas de hipocalcemia hasta 24 hs luego de la infusión de ACD y con excelente respuesta al calcio.

Relaciones con mayor proporción de ACD se utilizan en pacientes con menor hematocrito e infusiones con mayor cantidad de ACD deben utilizarse con hematocrito elevado. Recientemente se ha reportado en 2 pacientes que reducciones menores de ACD han provocado gelación de la sustancia criopreservante debido al plasma autólogo utilizado en el proceso de congelamiento; por ello los autores aconsejan no reducir el ACD a menos de 12:1 de relación y suministrar heparina o calcio si existiese marcada intolerancia<sup>40</sup>. Reducir momentáneamente el flujo puede ser una medida razonable hasta que se supere el discomfort del paciente por disminuir la velocidad de ingreso del ACD y permitir una caída en su concentración. Gorlin y Rowley<sup>41</sup> plantean la alternativa de agregar ACD-A al 10-20% a la bolsa de recolección

en caso de utilizar Cobe Spectra o Haemonetics y para Fenwall CS-300 Plus agregar citrato a la bolsa de plasma autólogo; sin embargo los autores no dan como absolutamente válida esta alternativa para esta máquina, ya que la formación de coágulos puede producirse en la cámara de recolección y en este caso aceptan las sugerencias antecitadas por Burger y col.<sup>40</sup>. De hecho, Gorlin y col. han utilizado relaciones de 25:1 a 30:1 con el agregado de heparina en niños en los cuales se observa mayor susceptibilidad a toxicidad por citrato y se utilizaron flujos elevados de 2 ml/kg/minuto<sup>42</sup> lo que les ha permitido procesar hasta 12 volemias en 4 horas sin toxicidad por citrato<sup>43</sup>.

Los contenedores de citrato deben observarse continuamente, para evitar infusiones inadvertidas a gran velocidad<sup>44</sup>. No obstante el ACD, utilizado desde 1943, es el más seguro de los anticoagulantes utilizados<sup>45</sup> desde la introducción de la primera máquina de aféresis en 1963<sup>46</sup>.

Durante la recolección, los pacientes deben monitorearse en sus signos vitales cada 30 minutos o según necesidad. En pacientes con algún riesgo cardiológico y en niños, utilizamos monitoreo cardíaco y saturometría digital a efectos de un control más adecuado.

## RECOLECCION

Las CPHSP son obtenidas como un producto de leucoféresis por la acción de un separador celular. Estos separadores pueden ser de flujo discontinuo o continuo. Las máquinas utilizadas son la Haemonetics V 50 Plus<sup>47, 48</sup>, la MCS-3p<sup>49</sup>, la Cobe Spectra ya sea con dispositivo semiautomático<sup>50</sup> o el reciente automático Auto PBSC System TM<sup>51</sup>, la Baxter Fenwall CS-3000 Plus<sup>52</sup>, la Dideco Vivacell<sup>53</sup> y Excell<sup>54</sup> y la Fresenius en sus versiones AS 104<sup>55</sup> y AS.TEC 204.

Es intuitivamente obvio que existen grados variables de movilización de células desde el pool marginal o sitios extravasculares durante los procedimientos de leucoféresis; de no ser así, existiría la posibilidad teórica de alcanzar recuento leucocitario cero. Las leucoféresis realizadas en leucemia con hiperleucocitosis<sup>56</sup> indican que luego de procesar dos volemias y de remover una cantidad de células leucémicas equivalentes al recuento inicial, sólo un promedio de 40% de reducción en el recuento periférico fue detectado. Similares observaciones se constataron en procedimientos de granulocitoféresis<sup>57</sup>.

La movilización de CD34+ durante la recolección es más habitualmente referida como consecuencia de la estimulación medular por quimioterapia y/o citoquinas y existen pocos datos de la presencia y mag-

nitud de movilización de CD34+ por los procedimientos de aféresis, especialmente procesando grandes volúmenes, lo que hoy constituye la práctica habitual. En un estudio no publicado, Jane Hester, del MD Anderson Cancer Center observó una reducción promedio del 40% de CD34+ en la sangre periférica al finalizar el procedimiento, pero existió una variación entre +80% y -80%. Esto sugiere una gran variabilidad en donantes individuales y pacientes para movilizar CD34+ durante la leucoféresis<sup>58</sup> y contribuye a dificultar la generación de un modelo matemático capaz de predecir la cosecha de CD34+<sup>59</sup>.

La contribución principal de la máquina de aféresis es la eficiencia en la separación programada de predeterminadas poblaciones celulares. En su definición más estricta eficiencia corresponde a la fracción (%) de células progenitoras hematopoyéticas removidas de la sangre periférica en su paso a través de la centrífuga y antes de retornar al torrente sanguíneo del paciente. El número de células que pasa por la centrífuga se expresa usualmente como el número promedio de células contadas inmediatamente pre y post aféresis. A pesar que se pregona que la mayoría de los separadores son razonablemente adecuados y de reproducibles eficiencias, el rango de éstas se ha referido entre 30-90%. Existen algunos factores que seguramente intervienen en esta amplísima variabilidad: el primero es que infrecuentemente se valora el recuento post-aféresis de las células progenitoras en el paciente y el segundo es que excepcionalmente se han valorado, hecho especialmente importante al procesar grandes volúmenes, varios recuentos intra-aféresis. Se deduce entonces que los cálculos de eficiencia de un separador están fuertemente influenciados por el número total de células progenitoras que pasan por la centrífuga. La gran variabilidad de recuentos de células progenitoras del paciente a lo largo de un procedimiento revela la capacidad o no que posee de movilizar la leucoféresis, en un determinado paciente, células progenitoras<sup>59</sup>.

Todos los procesadores utilizan el principio de separación celular en que las capas celulares se depositan por gradientes de densidad, bajo fuerzas centrífugas con o sin contraflujo y colectando en forma continua o intermitente.

Bellavita y col.<sup>54</sup> comparan la eficiencia de seis separadores en coleccionar CPHSP (Dideco Excel y Vivacell BT 768 A, Fenwall CS 3000 Plus, Fresenius AS 104, MCS3p y Spectra Cobe semiautomática).

La Dideco Vivacell es un separador semiautomático, en gran medida operador dependiente, de flujo continuo, la interfase de recolecciones es operada manualmente y requiere un monitoreo constante. La interfase se basa en la observación del color rosa en la línea de recolección. El flujo utilizado es de 1 ml/

kg/minuto, la relación sangre/ACD de 14:1, la velocidad de centrifugación de 1000 rpm y el volumen medio procesado de 9065 ml (rango: 4300-11400).

La Baxter Fenwall CS 3000 Plus es un separador de flujo continuo, y la separación de los distintos componentes se realiza en forma automática con parámetros prefijados. Los componentes sanguíneos son centrifugados separadamente dentro del kit de aféresis por diferencia de densidad. Posee dos cámaras: una de recolección y otra de separación, ambas de distintos tamaños y otras dos más pequeñas por las cuales se cambian y que son utilizadas fundamentalmente en niños para mantener, entre otras diferencias, volúmenes extracorpóreos menores. El flujo medio es de 50 ml/minuto (rango: 40-85). La velocidad de centrifugación es de 1400 rpm y el volumen total procesado de 9465 ml (rango: 6.000-11.080).

La Haemonetics MCS 3P es un separador automático, de flujo discontinuo. La sangre es separada en un recipiente de 125 ml y se utiliza un único acceso venoso. El flujo medio utilizado es de 90 ml/minuto (rango: 50-150), la velocidad de centrifugación de 4.850 rpm y el volumen medio procesado de 4.805 ml (rango: 3.000-7212).

La Fresenius AS104 es un separador automático de flujo continuo con ciclos de recolección intermitentes. Se utilizaron dos programas diferentes (circunstancia standard para muchos servicios de recolección celular); el programa MNC que utiliza el kit P1Y y el programa PBSC que utiliza el kit C4Y. Con el MNC el flujo medio es de 64 ml/minuto, (rango: 20-80) y la velocidad de centrifugación de 1.500 rpm. La relación sangre/ACD es de 14:1 y el volumen medio procesado de 10.060 ml (rango: 3.700-11.270). El programa PBSC utiliza similares flujos y rangos e idéntica relación sangre/ACD. El volumen de ciclo es de 400ml, las revoluciones de 1.800 rpm y el volumen total procesado de 9.465 ml (rango: 3.330- 12.200).

La Cobe Spectra es un separador computado semiautomático que permite recoger lo colectado en una bolsa fuera de la cámara de recolección, y la interfase de ésta es manualmente fijada cambiando la velocidad de flujo. El flujo medio es de 65 ml/minuto (rango: 25-60), la relación sangre/citrato 14:1 y la velocidad de centrifugación de 1050 rpm. El volumen procesado es de 11.198 ml (rango: 3.455-13.141).

La Dideco Excel es un separador continuo, automático con ciclos de recolección intermitentes. El flujo medio es de 60 ml/minuto (rango: 30-71). La relación sangre/ACD 14:1 y las revoluciones de 1.750 rpm. El volumen por ciclo de 300ml y el volumen procesado medio de 10.163 ml (rango: 4.264-12.100).

Se analizaron 730 procedimientos.

Los autores concluyen:

- 1- El separador ideal no se halla aún presente en el mercado y la elección de la máquina de aféresis debería adaptarse a las necesidades y preferencias de cada equipo.
- 2- Si se requiere un producto final con baja concentración eritrocitaria y un elevado volumen procesado por hora, la Cobe Spectra podría constituirse en electiva.
- 3- Si el objetivo primordial es mantener el más bajo volumen extracorpóreo y la menor contaminación de plaquetas, la Fresenius se constituiría en el separador más apto; sin embargo tiene la dificultad de utilizar dos equipos distintos de acuerdo al conteo leucocitario pre-aféresis.
- 4- La MCS3Plus, posee una buena eficiencia en la recolección de mononucleares y permite un solo acceso venoso. Se ha demostrado que la capa superior con hematocrito de 8% y el buffy coat producido en el recipiente de centrifugación contiene la mayor abundancia de células CD34<sup>+</sup><sup>60</sup>. Requiere mayor tiempo para procesar grandes volúmenes. La Dideco Vivacell es semiautomática, de concepción antigua y requiere demasiadas operaciones manuales; no obstante en manos muy familiarizadas con este separador se pueden obtener buenos resultados.
- 5- La Fenwall CS 300 Plus requiere aproximadamente 8 minutos más en ensamblaje y purga que el resto de los separadores, el volumen procesado por hora es significativamente menor que Excel y Cobe Spectra, similar a Fresenius AS104 y superior a MCS3Plus. Es la que maneja mayor volumen extracorpóreo el cual se reduce al utilizar cámaras de recolección y separación de pequeños volúmenes. No obstante, es la máquina con mayor pureza en la obtención de mononucleares y la de también mayor eficiencia. Tiene un único descartable independientemente de la célula o partícula a separar. Tanto en Excel como en Fenwall 3000 CS Plus los autores han referido desperfectos técnicos en un porcentaje elevado.

En nuestra experiencia -utilizando predominantemente Fresenius y Fenwall-coincidimos en los puntos referidos por los autores, con excepción que no hemos constatado en ningún caso desperfecto técnico que obligase a suspender un procedimiento con este último separador. Observamos como defectos en esta máquina, el sistema poco práctico para el vaciamiento manual de la bolsa en la cámara de la centrífuga y la dificultad de realizar recuentos seriados del producto intra-aféresis que obliga a detener todo el procedimiento.

En la Fenwall 300 CS Plus hemos incrementado en aproximadamente un 30% la eficiencia en la recolección de MNC en el programa Special 1 utilizando HES al 6% (100-300 ml) combinado a la solución de ACD y agregando heparina compensando la disminución de citrato.

Hemos reservado el uso de la Fresenius exclusivamente para niños, por su menor volumen extracorpóreo, lo que nos ha permitido procesar grandes volúmenes sin dificultades, incluso en niños de menos de 10 kg. de peso. En niños, no excedemos bajo ninguna circunstancia los 30 ml/minuto de flujo y en todos aquellos de menos de 35-40 kg. de peso realizamos el purgado del separador con sangre total o glóbulos rojos desplasmatisados e irradiados.

Para solucionar la necesidad de múltiples aféresis que permitan recolectar un número adecuado de CPHSP para trasplante autólogo se utilizan en la actualidad leucoféresis de grandes volúmenes (LVL), definiéndose como tal al procesamiento de 3 a 5 veces el volumen sanguíneo total en una sesión<sup>61</sup>. No obstante, hasta 46 litros han sido procesados en un solo día<sup>61</sup>; la LVL ha sido utilizada con éxito tanto en niños<sup>42, 43, 62-65</sup> como en adultos<sup>12, 61, 66-71</sup>.

Como referimos previamente, la LVL ha demostrado su capacidad de reclutar células progenitoras en la circulación; esto fue comprobado en donantes normales y pacientes con cáncer sin movilización previa<sup>11, 61, 73, 74</sup>. En uno de estos trabajos se refiere que tanto el número de CFU-GM como el de células CD34+ recolectadas se incrementaron al doble entre el inicio y el fin de la aféresis<sup>74</sup>. Otro estudio demuestra incremento del 30% de CD34+ post-aféresis en pacientes con cáncer de mama avanzado movilizadas con quimioterapia y citoquinas<sup>61</sup>. No obstante otros autores refieren disminución o estabilización en el número de células progenitoras durante el proceso de aféresis<sup>42, 75</sup>. Scott Rowley del Fred Hutchinson Cancer Center, escribe: «... en el procedimiento de aféresis no hay un sistema de dos compartimentos, con CD34+ ya en la sangre periférica o en la bolsa de recolección del aparato de aféresis. Si fuese así, la aféresis, especialmente la LVL, rápidamente deplecionaría la sangre de estas células. En realidad es un sistema de tres compartimentos en el cual la médula ósea es un componente esencial.... existe una constante liberación de CD34+ desde la médula ósea.... y los pacientes tratados con quimioterapia de movilización liberan entre  $2 \times 10^5$  y  $2 \times 10^6$  CD34+ por minuto desde la médula ósea ...»<sup>75</sup>.

En el interjuego entre la cantidad de células liberadas desde la M.O., la eficiencia del separador, y la cantidad de volumen procesado, quizás se encuentre la explicación de tan grandes variaciones.

## COMPLICACIONES

La toxicidad por citrato constituye la complicación más frecuente, aunque es razonablemente fácil de prevenir y resolver, excepto en niños muy pequeños donde los trastornos neurológicos o cardíacos pueden sobrevenir y pasar poco advertidos. Si los pacientes presentan síntomas o signos de hipocalcemia suministramos 45 mg. de Gluconato de Calcio en goteo paralelo a pasar en 30 minutos además de 2 comp. de 1.250 mg. de calcio oral; en niños utilizamos igual dosis pero se suministra en un lapso variable entre 1 y 4 hs. En algunos casos reducimos el flujo o detenemos momentáneamente el procedimiento.

La hipovolemia es una manifestación infrecuente y habitualmente se interrumpe el procedimiento, recomenzando a menor flujo, una vez regulada la situación. Constituye un evento de significación en niños pequeños puesto que leves variaciones del volumen extracorpóreo pueden implicar variaciones muy significativas en el volumen intravascular.

Las complicaciones que presentaron los catéteres son múltiples y variadas; Goldberg<sup>76</sup> refiere complicaciones del catéter en el 14,9% de las recolecciones y la trombosis fue el más frecuente efecto adverso con 85% de respuesta a trombolisis; otro grupo refiere luego de 727 procedimientos de aféresis en 153 pacientes (1991-1993), 11% de complicaciones<sup>32</sup>. En los catéteres colocados en vena cava inferior se constató una muy elevada incidencia de trombosis e infecciones<sup>33</sup>.

Hahn y col. refieren: punción carotídea en el 2%, infección local en el 3%, sepsis relacionada a catéter en el 2% y neumotórax en el 0.5%; al retiro del catéter se comprobó un 5% de trombosis de yugular interna<sup>32</sup>.

En nuestra experiencia, realizamos lavados con heparina luego de cada aféresis, retiramos el catéter una vez finalizada la recolección, y no efectuamos ningún tipo de terapia antitrombótica sistémica rutinaria; al presente luego de 165 procedimientos de aféresis en 85 pacientes no hemos tenido ninguna complicación trombotica u oclusión del catéter. En una oportunidad observamos un neumotórax, que se reiteró posteriormente en una paciente con enfermedad de Ehler-Danlos y en un niño se constató incorrecta fijación del catéter con su orificio proximal fuera de la vena subclavia. En dos oportunidades se constató sepsis que fue imposible relacionar fehacientemente con la colocación y/o manipulación del catéter.

Probablemente la causa de la notable reducción observada en las complicaciones relacionadas al catéter se deba a que las recolecciones duran muchos menos días y que el catéter es habitualmente retirado al finalizarlas.

Existe una reducción entre el 20 y el 50% de plaquetas en los pacientes sometidos a leucoféresis, pero adquiere relevancia sólo en contados pacientes que habitualmente inician el procedimiento con cifras por debajo de  $50 \times 10^9 / l^{77,78}$ . En nuestra experiencia, indicamos transfusiones de plaquetas si éstas caen intraleucoféresis a menos de  $15 \times 10^9 / l$  o si existen evidencias de sangrado. Pese a encontrarse referido en la literatura<sup>79</sup> no fue detectada neutropenia atribuible a la separación celular. La disminución del hemato-crito es un evento habitual, más atribuible a dilución que a anemia inducida por las recolecciones.

## BIBLIOGRAFIA

1. Gratwohl A, Schmitz N. First International Symposium on Allogeneic Peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: S1-S3.
2. Gratwohl A, Passweg J, Baldomero H y col. for the European Group for Blood and Marrow transplantation ( EBMT) *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 227-240.
3. Bensinger WI, Weaver CH, Appelbaum FR y col. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem mobilized by recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Blood* 1995; 85: 1655-8.
4. Schmitz N, Dreger P, Suttrop M, et al. Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor mobilized by filgrastim. *Blood* 1995; 85: 1666-72.
5. Anderlini P, Gratwohl A, Gluckman, E Champlin R y col. Allogeneic blood stem cell transplantation. Considerations for donors. *Blood* 1997; 90(3): 903-8.
6. Goldman J. Peripheral blood stem cells for allografting. *Blood* 1995; 85: 1413-15.
7. Hillyer CD, Wells SJ. *Alternative sources of haematopoietic stem cell for bone marrow transplantation and rescue.* *J Hematother* 1993; 2: 491-9.
8. Lowry PA, Tabbara IA. Peripheral haematopoietic stem cell transplantation. Current concepts. *Exp Hematol* 1992; 20: 937-42.
9. Molineux G, Pojada Z, Hampson IN y col. Transplantation potential of peripheral blood stem cell induced by granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1990; 76: 2153-8.
10. Hillyer CD. Large volume leukapheresis to maximize peripheral stem cell collection. *J Hematother* 1993; 2: 529-32.
11. Malachowski ME, Comenzo RL, Hillyer CD y col. Large volume leukapheresis for peripheral blood stem cell collection in patients with hematologic malignancies. *Transfusion* 1992; 32: 732-5.
12. Comenzo RL, Vosburgh E, Weintraub LR y col. Collection of mobilized blood precursors cells for hematopoietic rescue by large volume leukapheresis. *Transfusion* 1995; 35: 493-7.
13. Richman CM, Weiner RS, Yankee RA. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood* 1976; 47: 1031-4.
14. Socinski MA, Cannistra SA, Elias A y col. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988; 28: 1194-8.
15. Körbling M, Przepiorka D, Hug YO y col. Allogeneic blood stem transplantation for refractory leukemia and lymphoma: potential advantage of blood over marrow cells. *Blood* 1995; 85: 1659-65.
16. Smith TH, Hilner BE, Schmitz N y col. Economic analysis of a

- randomized clinical trial to compare filgrastim-mobilized peripheral blood progenitor stem cell transplantation and autologous bone marrow transplantation in patients with Hodgkin and non Hodgkin lymphomas. *J Clin Oncol* 1997; 15: 5-10.
17. To LB, Haylock DN, Simmons PJ y col. The biology and clinical uses of blood stem cells. *Blood* 1997; 89: 2233-58.
  18. Weaver CH, Hazelton B, Birch R y col. An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34+ content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy. *Blood* 1995; 86: 3961-69.
  19. Kiss JE, Ribka WB, Winkelstein A, y col. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19: 303-10.
  20. Derskin MW, Rodenhuis S, Dirkson MKA, y col. Subset of CD34+ cells and rapid hematopoietic recovery after peripheral blood stem cell transplantation. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1922-33.
  21. Glaspay JA, Shpall EJ, Le Maistre CF y col. Progenitor blood stem cell mobilization using stem cell factor in combination filgrastim in breast cancer patients. *Blood* 1997; 90: 2939-51.
  22. Glaspay JA, Lu ZJ, Wheeler C y col. Economic rationale for infusing optimal numbers of CD34+ cells in peripheral blood progenitor cell transplants. *Blood* 1997;90 (suppl 1): 370<sup>a</sup> Abstract 1646
  23. Weaver CH, Birch R, Schulman KA y col. Effect of cell dose on resource utilization in patients undergoing transplant with peripheral blood progenitor cells. *Blood* 1997;90 (suppl 1) 370<sup>a</sup> Abstract 1647.
  24. Riera L, Koziner B. Movilización de Células Progenitoras Hematopoyéticas de Sangre Periférica. *Hematología* 1998; 2; 3: 93-108.
  25. BCSH Blood Transfusion Task Force for the collection, processing and storage of human bone marrow and peripheral blood stem cells. *Transf Med* 1994; 4: 65-72.
  26. American Association of Blood Banks. Standards for Blood Banks and Transfusion Services. Section Q Bone Marrow and Peripheral Blood Progenitor Cells. 17<sup>th</sup> Edition. Bethesda: AABB, 1996.
  27. Foundation for the accreditation of Hematopoietic cell Therapy (FAHCT) Standards for the collection, processing and transplantation of Hematopoietic progenitor cells. 1<sup>st</sup> Edition. Omaha. FAHCT, 1996.
  28. Maiolino I, Aversa F, Bacigalupo A, y col. Allogeneic transplants of G-CSF mobilized peripheral stem cell from normal donors. *Hematologica* 1995, 80: 40-3.
  29. Haire WD, Stephens LC, Kotulak GD y col. Double lumen inferior vena cava catheters for peripheral stem cell apheresis and transplantation. *Transfus Sci* 1995; 16: 79-84.
  30. Perotti C, Torretta L, Locatelli F y col. Peripheral blood stem cell collection from healthy donors for allogeneic transplantation. *Transfus Sci* 1996; 17: 423-31.
  31. Haire W, Sniecinski I. Venous access, anticoagulation and patient care during apheresis. In: *Practical Considerations of Apheresis in Peripheral Blood Stem Cell Transplantation*. 1994. Kessinger A and Mc Mannis JD Editors.
  32. Hahn U, Goldschmidt H, Salwender H y col. Large-bore central venous catheters for the collection of peripheral blood stem cell. *J Clin Apheresis* 1995; 10: 12-6.
  33. Haire WD, Lieberman RP, Lund GB y col. Translumbar inferior vena cava catheters, safety and efficacy in peripheral blood stem cell transplantation. *Transfusion* 1990; 30: 511-5.
  34. Stephens LC, Haire WD, Schmidt-Pokorny K y col. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor: high incidence of apheresis catheter thrombosis during peripheral stem cell collection. *Bone Marrow Transplant* 1993; 11: 51-4.
  35. Haas R, Ho AD, Bredthauer U y col. Successful autologous transplantation of blood stem cell mobilized with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Exp. Hematol* 1990; 18: 94-8.
  36. Ravagnani F, Bregni M, Siena S y col. Role of recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor for large scale collection of peripheral blood stem cells for autologous transplantation. *Hematologica* 1990; 75 (Suppl 1): 22-5.
  37. Stephens LC, Haire WD, Tarantolo S y col. Normal Saline versus heparin flush for maintaining central venous catheter patency during apheresis collection of peripheral blood stem cells (PBSC). *Transfus Sci* 1997; 18: 187-92.
  38. Cassidy MJD, Wood L, Jacobs P. Hypocalcemia during plateletpheresis. *Transfus Sci* 1990; 11: 217-21.
  39. Farrokhi P, Farahmand H, Bismuth A, y col. How to stabilize the level of ionized calcium and citrate during plateletpheresis. *Vox Sang* 1998; 74: 7-12.
  40. Burger SR, Faustsch SK, Stroncek DF y col. Concentrations of citrate anticoagulant in peripheral blood progenitor cells collections. *Transfusion* 1996; 36: 798-801.
  41. Gorlin JB, Rowley SD. Citrate ratio in collection of peripheral blood progenitors. *Transfusion* 1997; 37: 768.
  42. Gorlin JB, Humpreys P, Kent P y col. Pediatric large volume peripheral blood collections from patients under 25 kg: a primer. *J Clin Apheresis* 1996; 11: 195-203.
  43. Gorlin JB, Vanvakas EC, Cooke E y col. Large volume leukapheresis in pediatric patients: processing more blood diminishes the apparent magnitude of intra apheresis recruitment. *Transfusion* 1996; 36: 879-85.
  44. Uhl L, Maillet S, King S, y col. Unexpected citrate toxicity and severe hypocalcemia during apheresis. *Transfusion* 1997; 37: 1063-5.
  45. Schmidt PJ. The apheresis anticoagulant. *Transfusion* 1998; 38: 318-9.
  46. Rock G, Sutton DMC. Apheresis: man versus machine (editorial). *Transfusion* 1997; 37: 993-5.
  47. Schouten HC, Kessinger A, Smith DM y col. Counterflow centrifugation apheresis for the collection of autologous peripheral blood stem cells from patients with malignancies: a comparison with a standard centrifugation apheresis procedure. *J. Clin Apheresis* 1990; 9: 33-4.
  48. Brandao J, Masumoto CM, Giochini R, y col. Peripheral blood stem harvest in Haemonetic V50 Plus. 1996, ASH Congress. Abstract 3659.
  49. Morton JA, Baker DP, Hutchin CJ y col. 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: 631-3.
  50. James P. Collection of peripheral blood stem cell on Spectra. *J Clin Apheresis* 1994; 9: 33-4.
  51. Haut PR, Olszewski M, Schaff M y col. A comparison of the standard semiautomated versus the new automated interface leukopheresis procedure for the collection of peripheral blood stem cell in pediatric patients using the Cobe Spectra TM. 1997. ASH Congress. Abstract 4215.
  52. To LB, Stemmelin GR, Haylock DN y col. Collection efficiency on the Fenwall CS 3000 when using filgrastim as a peripheral blood stem mobilization agent. *J Clin Apheresis* 1994; 9: 1991-5
  53. Del Monte C, Basso P, Consoli P y col. Collection of peripheral blood stem cells by apheresis with continuous flow blood separator Dideco Vivacell. *Hematologica* 1990; 75 (Suppl 1): 18-21.
  54. Bellavita P, Celega E, Poma R Comparison of performance of six different cell separators in collecting peripheral blood

- mononuclear cells. *Transfus Sci* 1997; 18: 215-221.
55. Pierelli L, Menichella G, Paolini A y col. Evaluation of a novel automated protocol for the collection of peripheral blood stem cell mobilized with chemotherapy plus G-CSF using the Fresenius AS104 cell separator. *J Hematother* 1993; 2: 145-53.
  56. Ventura GJ, Hester J, Keating M y col. Acute myeloblastic leukemia with hyperleukocytosis: Risk factors for early mortality in induction. *Am J Hematol* 1988; 28: 3.
  57. Hester J. Principles of blood separation and component extraction in a disposable continuous-flow single stage channel. *Blood* 1979; 54: 254.
  58. Olivieri A, Offidani M, Ciniero L y col. Optimization of the yield of peripheral blood stem cells for autotransplantation mobilized by high dose chemotherapy and G-CSF: proposal for a mathematical model. *Bone Marrow Transplant* 1994; 14: 276-9.
  59. Hester J, Bojko P, Champlin R y col. Integration of biological, procedural, apheresis principles of peripheral blood stem cell transplantation programs. *Transfus Sci* 1997; 17: 585-90.
  60. Ghielmini M, Pfister U, Zucca E y col. Distribution of mobilized progenitor stem cell in the buffy coat of the Haemonetics MCS 3Plus cell separator: a study to optimize the collection of progenitors by leukapheresis. *J Hematotherapy* 1998; 7: 251-6.
  61. Passos Coelho JL, Brine HG, Wrigth SK y col. Large volume leukapheresis using regional citrate anticoagulation to collect peripheral blood progenitors cells. *J Hematother* 1995; 4: 11-9.
  62. Takue Y, Kawano Y, Abe T y col. Collection and trasplantation of peripheral blood stem cell in children weighing 20 kg. or less. *Blood* 1995; 86: 372-7.
  63. Demeocq F, Kanold J, Chassagne J y col. Succesfull blood stem cell collection and transplant in children weighing 25 kg. or less. *Bone Marrow Transplantation* 1994; 13: 43-9.
  64. Zingsem J, Weisbach W, Zimmerman R y col. Stem cell separation in pediatric patients. *Transfus Sci* 1997; 17: 607-10.
  65. Worel N, Peters Ch, Gerhalt K y col. Collection of peripheral blood stem cell after chemotherapy and GM-CSF in children weighing less than 17 kg. *Transfus Sci* 1997; 17: 601-6.
  66. Comenzo R, Malachowski ME, Miller KB y col. Engraftment with peripheral blood stem cells collected by large volumen leukapheresis for patients with lymphoma. *Transfusion* 1992; 32: 779-34.
  67. Hillyer CD. Large volume leukapheresis to maximize peri-pheral blood stem collection. *J Hematotherapy* 1993; 2: 529-32.
  68. Petengell R, Morgenstern GR, Woll PJ, y col. Peripheral blood progenitor stem cell transplantation in lymphoma and leukemia using a single apheresis. *Blood* 1993; 82: 3770-76.
  69. Comenzo RL, Malachowski ME, Miller KG y col. Large volume leukapheresis for collection of mononuclear cells for hematopoietic rescue in Hodgkin disease. *Transfusion* 1995; 35: 42-49.
  70. Alegre A, Diaz MA, Madero L y col. Large volume leukapheresis for peripheral blood stem cell collection: A simplified single apheresis approach. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 923.
  71. Cull G, Ivey J, Chase P y col. Collection and recruitment of CD34+ during large volume leukapheresis. *J Hematother* 1997; 6: 309-14.
  72. Passos Coelho JL, Machado MA, Lúcio P y col. Large volume leukapheresis may be more efficient than standard volume leukapheresis for collection of peripheral blood progenitor cells. *J Hematother*; 6: 465-74.
  73. Hillyer CD, Tiegerman KO. Increase in circulating colony forming units granulocyte macrophage during large volume leukapheresis. *Transfusion* 1991; 31: 327.
  74. Hillier CD, Lackey DA, Hart KK y col. CD34+ progenitors and colony forming units granulocyte-macrophages are recruited during large volume leukapheresis and concentrated by counterflow centrifugal elutriation. *Transfusion* 1993; 3: 316.
  75. Rowley SD. Processing of hematopoietic stem cell for transplantation: variations in current practice. *Transfusion* 1998; 38: 1-4.
  76. Goldberg SL, Mangan KF, Klumpp TR y col. Complications of peripheral blood progenitors stem cell harvesting: review of 554 PBDC leukaphereses. *J Hematother* 1995; 4: 85-90.
  77. McCarthy L, Danielson C, Oraci A y col. Platelet loss during peripheral blood progenitor cell collections. *Transfus Sci* 1996; 12: 475.
  78. Orlina AR, De Christopher PJ, Conant JC y col. Peripheral blood stem collection with reduce platelet loss to patient/donor. *J Clin Apheresis* 1995; 10: 1-6.
  79. Anderlini P, Przepiorka D, Champlin R y col. Transient neutropenia in normal donors after G-CSF mobilization and stem cell apheresis. *Br J Haematol* 1996; 94: 155-8.