



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Facultad de  
**MEDICINA**

**RECuento DE CÉLULAS CD 34+ EN TRASPLANTE AUTÓLOGO DE  
CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN PACIENTES CON  
MIELOMA MÚLTIPLE**

**CD 34+ CELL COUNT IN AUTOLOGOUS TRANSPLANTATION OF  
HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELLS IN PATIENTS WITH  
MULTIPLE MYELOMA**

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE SEGUNDA  
ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE  
SANGRE**

**AUTOR**

**CARLOS LUIS COSTILLA RIVERA**

**ASESOR**

**JUAN JOSÉ MONTAÑEZ MEJÍA**

**LIMA – PERÚ**

**2024**



**ASESOR DE TRABAJO ACADÉMICO**

Licenciado T.M. Juan José Montañez Mejía

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0000-0001-9893-8467

### **DEDICATORIA:**

Dedico este trabajo a mis padres por inculcar el deseo de superación y ver las cosas positivas en cada momento, a mis hermanos por sus consejos que me han permitido crecer personalmente, a mi esposa e hijos por el amor y comprensión que me han permitido seguir esta especialidad y ser siempre mi apoyo para ser mejor persona y profesional para el bienestar de mi familia y contribuir a crear una mejor sociedad.

### **AGRADECIMIENTO:**

Agradecimiento a Dios por ser mi guía, a mis profesores de la universidad que me permitieron crecer profesionalmente, a mis asesores por sus recomendaciones y consejos en el desarrollo del presente trabajo, a mis compañeros por sus conocimientos y apoyo en el trabajo que me permitió avanzar en la presente especialidad y a mi esposa por darme la oportunidad de seguir creciendo profesionalmente.

### **FUENTES DE FINANCIAMIENTO:**

La presente monografía es un trabajo autofinanciado.

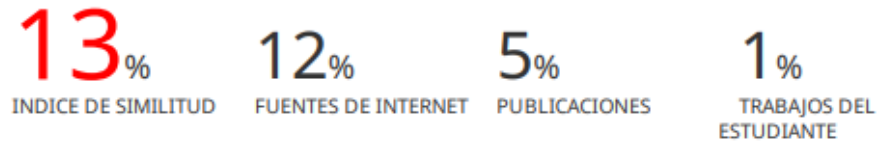
cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en la monografía.

Asimismo, me hago responsable ante la universidad o terceros, de cualquier irregularidad o daño que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado. De identificarse falsificación, plagio, fraude, o que la monografía haya sido publicada anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, responsabilizándome por todas las cargas pecuniarias o legales que se deriven de ello sometiéndome a las normas establecidas y vigentes de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

## RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

### RECUESTO DE CÉLULAS CD34+ EN TRASPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE

#### INFORME DE ORIGINALIDAD



#### FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	4%
2	<a href="http://pesquisa.bvsalud.org">pesquisa.bvsalud.org</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="http://aprenderly.com">aprenderly.com</a> Fuente de Internet	1%
4	JF Combariza, G Barco, Á Estrada, S Jaramillo, M Arango. "Recuento de células CD34+ en sangre periférica como predictor de adecuada recolección de progenitores hematopoyéticos para trasplante autólogo", IATREIA, 2016 Publicación	1%
5	Submitted to Universidad Autónoma de Nuevo León Trabajo del estudiante	1%
6	<a href="http://www.fucalec.org">www.fucalec.org</a> Fuente de Internet	1%

<b>TABLA DE CONTENIDOS</b>	<b>Pág.</b>
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVO .....	3
CAPÍTULO I .....	4
1. Enfermedad de Mieloma Múltiple .....	4
2. Células CD 34+ .....	4
3. Movilización de células CD34+ .....	5
4. Medición de células CD34+ .....	5
CAPÍTULO II .....	8
5. Recuento de células CD 34+ en muestra pre colecta .....	8
6. Recolección de células progenitores hematopoyéticas .....	9
7. Recuento de células CD34+ en el producto colectado .....	11
8. Componente celular del producto colectado .....	12
CAPÍTULO III .....	13
9. Almacenamiento de producto colectado (células CD34+) en refrigeración...	13
10. Almacenamiento de producto colectado (células CD34+) en Criopreservación .....	13
11. Recuento de células CD34+ en producto colectado descongelado .....	14
CONCLUSIONES .....	15
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	17
ANEXOS .....	24

## RESUMEN

El mieloma múltiple representa a nivel mundial el 2% de todas las muertes de cáncer, en el Perú en el año 2018 representó el 1.7 % del total de pacientes con cáncer. El tratamiento estándar es la quimioterapia a dosis altas y trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas (CPH).

Las CPH que poseen el antígeno CD34 pueden producir células sanguíneas como plaquetas, eritrocitos, células mieloides y linfoides.

Para movilizar las CPH de la medula ósea hacia sangre periférica se usan dosis de factor estimulante de colonias de granulocitos.

**Objetivo.** Describir el proceso para el recuento de células CD34+ durante la recolección de CPH en el trasplante autólogo de pacientes con Mieloma Múltiple

**Conclusiones.** El inicio de la recolección se realiza cuando el recuento de células CD34+ está entre 10 a 20 /ul. Existe una relación directa entre el número de células CD34+ en la muestra pre colecta y las células CD34+ colectadas.

La concentración mínima en el producto colectado debe ser de  $2 \times 10^6$  /ul cel CD34+ por kg de peso, concentraciones  $>$  de  $4 \times 10^6$  cel CD34+ por kg de peso son recomendables.

El almacenamiento del producto colectado se puede realizar en refrigeración 2 a 8°C o criopreservación a  $<140^\circ\text{C}$ .

Palabras clave: Recuento, Trasplante autólogo, Células CD34+, Mieloma Múltiple.



## **ABSTRACT**

Multiple myeloma represents 2% of all cancer deaths worldwide, in Peru in 2018 it represented 1.7% of all cancer patients. The standard treatment is high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell (HSC) transplantation.

HSCs that possess the CD34 antigen can produce blood cells such as platelets, erythrocytes, myeloid and lymphoid cells.

To mobilize HSCs from the bone marrow into peripheral blood, doses of granulocyte colony-stimulating factor are used.

Objective. Describe the process for counting CD34+ cells during HSC collection in autologous transplantation of patients with Multiple Myeloma.

Conclusions. The collection begins when the CD34+ cell count is between 10 to 20 /ul. There is a direct relationship between the number of CD34+ cells in the pre-collected sample and the collected CD34+ cells.

The minimum concentration in the collected product should be  $2 \times 10^6$  /ul CD34+ cells per kg of weight, concentrations  $> 4 \times 10^6$  CD34+ cells per kg of weight are recommended.

Storage of the collected product can be carried out in refrigeration 2 at 8°C and/or cryopreservation  $<140^\circ\text{C}$

Keywords. Count, Autologous transplant, CD34+ cells, Multiple Myeloma

## INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple es un cáncer de células plasmáticas de mal pronóstico y es considerado como incurable. El tratamiento para pacientes menores de 65 años es la quimioterapia a dosis altas y trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas (1,2). En los últimos años se han realizado experiencias en pacientes mayores de 65 años (2,3).

Para realizar el trasplante autólogo de los pacientes con Mieloma Múltiple como tratamiento estándar (1,2). Primero son estimulados para que las células progenitoras hematopoyéticas se movilicen de la medula ósea a la sangre periférica realizándose el recuento de células CD34+ para el seguimiento adecuado de dicha movilización. Durante este proceso hay personas que son consideradas poco movilizadores por lo que se incluyen en el protocolo la administración de fármacos adicionales (4,5,6). Para decidir el inicio de la colecta de progenitoras hematopoyéticas en sangre periférica, el recuento de células CD34+/ul por citometría de flujo es considerado como el patrón (7).

En la literatura se ha descrito diferentes niveles de recuento de células CD34+ en sangre periférica para el inicio de la colecta por aféresis describiéndose diferentes probabilidades de éxitos en la recolección de células CD34+ en el producto colectado, describiéndose como  $2 \times 10^6$  cel /kg de peso como mínimo (1,4,6,8,9,10) y mayor de  $5 \times 10^6$  o más de células CD34+ como recomendado (5,10). Aquellas

pacientes que no alcanzan el nivel mínimo de células CD34+/ul son considerados como no movilizadores (4,6,11,12).

Se ha determinado que la cantidad de células CD34+ en el producto colectado tiene una relación directa con el éxito del trasplante (4).

Se ha observado el tipo de células que componen el producto colectado y se han estudiado si tienen impacto sobre el éxito del injerto, p.e. se ha encontrado que los productos que se han obtenido de pacientes que incluyeron en su movilización Plerixafor contienen elementos celulares más indiferenciados (13).

El producto colectado, puede ser conservado en refrigeración (4,6,14) o criopreservado a  $-140^{\circ}\text{C}$  (6), se ha reportado que el procedimiento de criopreservación disminuye la cantidad de células CD34+ viables infundidos (6,15).

Dada la importancia se plantea hacer una revisión del uso del recuento de células CD34+ durante la precolecta, colecta y almacenamiento antes del trasplante y los factores que pueden ser relevante para el recuento de células CD34+ y el éxito de la colecta antes de la infusión.

## **OBJETIVO**

Describir el proceso para el recuento de células CD34+ durante la recolección de CPH en el trasplante autólogo de pacientes con Mieloma Múltiple.

## **CAPÍTULO I:**

### **1. Enfermedad de Mieloma Múltiple**

De todas las muertes de cáncer a nivel mundial, el 2% es causado por Mieloma múltiple y a la vez representa entre el 10 - 20% de las neoplasias hematológicas (2,16). Se estima que el Mieloma Múltiple tiene una incidencia de 7/100,000 hombres y mujeres y mortalidad de 117,000 casos anual (17).

El trasplante de células madre en Mieloma múltiple fue el que ocupó la mayor cantidad de casos, el tratamiento estándar actual para los pacientes incluye la quimioterapia de alta dosis seguido de trasplante autólogo de células madre (3).

En el Perú se estimó que en el año 2018 hubo una incidencia de 995 casos lo que representó el 1.7 % del total de pacientes con cáncer (18).

### **2. Células CD34+**

En la medula ósea se originan las células madre hematopoyéticas, son multipotentes y pueden producir células sanguíneas como plaquetas, eritrocitos, células mieloides y linfoides (19) (figura 1).

Las células madre hematopoyéticas poseen el antígeno CD 34 (glicoproteína de membrana) que son expresadas en la diferenciación sanguínea inicial para luego desaparecer en etapas de mayor diferenciación (19).

### **3. Movilización de células CD34+**

Para realizar el trasplante autólogo, primero son estimulados para que las células progenitoras hematopoyéticas se movilen de la médula ósea a la sangre periférica realizándose el recuento de células CD34+ para el seguimiento adecuado de dicha movilización (6,8) (figura 2).

Para movilizar se usa varias dosis de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF); aquellos pacientes que no alcanzaron en el 4<sup>to</sup> día de movilización mayor de 10 cel CD 34+/ul se administró Plerixafor (4,20). En pacientes considerados como no movilizados se incluye en el protocolo la administración de Plerixafor, 10 a 11 horas antes del procedimiento (20) u otro protocolo de refuerzo. El definir a un paciente como movilizador y no movilizador se determina a través del recuento de células CD34+ en muestra de sangre periférica (4,21,22).

Se ha reportado que el tipo de factor estimulante de colonias de granulocitos usado (p.e. filgrastim y pegfilgrastim) puede impactar en el número de células CD34+ movilizadas en sangre periférica y la recuperación de plaquetas después del trasplante (22).

### **4. Medición de células CD 34+**

La recolección de la muestra de sangre periférica debe realizarse en tubos de EDTA y en ACD-A si provienen de aféresis. El transporte de la muestra debe realizarse entre 18°C a 22°C, no congelar, no transportarlas a temperaturas mayores a 37°C. El

recuento se realiza en citómetro de flujo (19). En caso no se pueda procesar inmediatamente las muestras pueden mantenerse hasta un máximo de 24 horas entre 20°C a 24°C (23).

#### 4.1. Recuento por doble plataforma

En este ensayo, para el recuento total de células CD34+ se requiere de un equipo hematológico para determinar el número total de leucocitos. En esta metodología se usa el anti CD45 que se encuentra en los leucocitos y el anti CD34.

El equipo generalmente requiere como muestra 100 ul y se debe realizar diluciones cuando el número de leucocitos es superior a  $2 \times 10^6/\text{ul}$  (19).

El cálculo de células CD34+ (19) se realiza con la siguiente formula:

$$\begin{aligned} & \text{Células CD34 +/ul} \\ & = \frac{\text{Recuento total de leucocitos}}{\text{ul}} \times \frac{\% \text{ de CD34 +}}{100} \times \text{Factor de dilución} \end{aligned}$$

#### 4.2. Recuento por plataforma única

En esta metodología (citometría de flujo) se usa solo citómetro de flujo, no se necesitan equipos de hematología para realizar el recuento total de leucocitos. Se adicionan microesferas para determinar el recuento total de células CD34+. El valor de CD34+ se calcula (19) mediante:

$$= \frac{\text{Recuento total de células CD34} \times \text{concentración de esferas} \times \text{Factor de dilución}}{\text{Recuento total de esferas}}$$

#### 4.3. Recuento por plataforma única y viabilidad celular

El principio de esta metodología es similar a la anterior, la diferencia es que también requiere el compuesto 7 amino actinomicina D (7AAD) que se une a ADN de las células no viables, pero no a las células con membranas intactas (15, 19) (figura 3).



## CAPÍTULO II:

### 5. Recuento de células CD 34+ en muestra pre colecta.

- El recuento de células CD34+ es importante para determinar el mejor momento para la recolección, el resultado de la colecta (4,8,15) (figura 4) y los beneficios para un injerto temprano (5,20), también ayudan a tener mejores costos al evitar uso innecesario de medicamentos como Plerixafor (20) u otras terapias de refuerzo.
- El recuento debe ser realizado el día 4, 5 de iniciado la movilización (4,8, 9,20), otros consideran que debe medirse todos los días (14), también se menciona cuando se tengan valores iguales o mayores de  $5 \times 10^3$  leucocitos/ul (6).
- El momento de la medición es en la mañana (4,8), a las 2 horas después de la última dosis administrada de factor estimulante de granulocitos (4).
- El inicio de la recolección debe realizarse cuando el recuento de células CD34+ es de 10 cel/ul (4,9,14,20,24), de  $> 15$  cel/ul (8), de  $> 20$  cel/ul (5,6,7,11). Estos valores se han relacionado a diferentes porcentajes de éxito en la recolección del producto en la colecta (8).

- No se encontró que la edad y el género tengan una relación estadísticamente significativa con la cantidad de células CD34+ obtenida o el tiempo del injerto (9,20).
- Existe una relación significativa directamente proporcional entre el número de células CD34+ antes de la cosecha y el número de células CD34+ colectadas en el procedimiento (8,20).
- Se ha reportado que la infusión de mayor número de células CD34+ contribuye a una recuperación hematopoyética más rápida, ( $> 5 \times 10^6$  /Kg) impactando directamente en mejor costo en el post trasplante (5,9).
- Realizaron análisis de trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas en pacientes mayor de 65 años, encontrando una mediana de  $3,37 \times 10^6$  /kg, cumpliendo con la dosis mínima para decir que el producto colectado fue un éxito (3), otros autores en sus estudios han reportado que pacientes entre 65-69 años y mayor de 70 años alcanzaron un 90% y 88.7% respectivamente a colectar el límite de  $2 \times 10^6$  células CD34+/kg (25).

## **6. Recolección de células progenitores hematopoyéticas**

- Se realizan mediante procedimientos de aféresis, en 01 o más sesiones (8,9).

- En la recolección por procedimientos de leucoaféresis estándar se procesa entre 2 a 3 volemias; en procedimientos de leucoaféresis de gran volumen, las volemias procesadas varían entre 3 a 6 (22,26).
- Los procedimientos de leucoaféresis de gran volumen son seguros y permiten alcanzar el éxito de colectas de células CD34+ en una sola aféresis (4).
- Un factor relevante para obtener un producto exitoso de colecta es el buen procedimiento, p.e. menor número de interrupciones por parte de los operadores durante la colecta (4).
- La colecta puede realizarse a través de acceso venoso periférico o catéter venoso central. Al comparar el producto colectado respecto a la calidad y seguridad no se ha encontrado diferencias (21).
- Las eficiencias para colectar células CD34+ de los equipos MCS+ y Optia fueron similares (12), este mismo estudio menciona que pueden preferirse los procedimientos con Optia en los pacientes con riesgo de trombocitopenia y anemia. Otro estudio comparó la colección autóloga de células madre de sangre periférica en los sistemas Spectra Optia y el Amicus, demostrando que las eficiencias fueron comparables, pero la pérdida de plaquetas fue significativamente menor en el sistema Amicus, esta información puede ser de utilidad para los centros que tengan ambos equipos y deban elegir qué equipo usar de acuerdo al paciente (26).

- No encontraron diferencias entre pacientes obesos y no obesos en el rendimiento de las colectas (1,27). Lo que si se vio es que con dosis más altas de células CD34+ se ha visto una recuperación más rápida de plaquetas (1).
- Se debe considerar que entre pacientes obesos y no obesos el tamaño óseo y la masa medular no difieren, la altura corporal si tienen relación con la longitud de los huesos por lo que, en este tipo de pacientes, para calcular la dosis de células CD34+, la altura del paciente puede ser más adecuada (1).
- Durante el procedimiento de recolección se reclutan en la sangre células mononucleares y células CD34+ no ocurriendo lo mismo con los granulocitos y plaquetas, el mecanismo involucrado en esta cinética puede ser la retroalimentación negativa (7) (figura 5).

## **7. Recuento de células CD34+ en el producto colectado**

- Se considera como producto exitoso de células progenitores hematopoyéticos, cuando tiene una concentración de  $2 \times 10^6$  células CD34+/kg peso (1,4,6,8,9,10); se considera como recomendable una concentración  $>4 \times 10^6$  células CD34+/kg peso (4) y  $5 \times 10^6$  células CD34+/kg peso (5,9,10).
- Se ha reportado que el trasplante de  $5 \times 10^6$  células CD34+/kg peso aseguró que el paciente tenga un mejor resultado, como menos días de hospitalización y menores costos para la transfusión post trasplante (1,5,9).

- Al compararse los volúmenes reportados por los equipos Spectra Optia y los obtenidos mediante el pesaje se demostró que hay una sobrestimación, esta información del volumen es usada para calcular la dosis final del injerto. El fabricante establece una variabilidad entre las bombas de 6% (el fundamento del equipo para calcular el volumen en la bolsa es a través de las rotaciones que realiza la bomba de recolección) (28). En algunas ocasiones esta sobreestimación podría ser clínicamente significativa (28) por lo que se recomienda el pesaje.

#### **8. Componentes celulares del producto colectado**

- Se ha investigado la composición celular del producto colectado y su impacto en el éxito del injerto.
- Se ha reportado que la infusión de dosis altas de células CD34+CD133+CD38- y células Natural Killers (NK) dieron mejores resultados después del trasplante autólogo (13). Un efecto adverso se correlacionó con un injerto con recuentos bajos de CD3+ y células Natural Killer (NK). Se requiere futuros estudios que corrobore estos resultados y la importancia de la composición del injerto (13).

### **CAPÍTULO III:**

#### **9. Almacenamiento de producto colectado (células CD34+) en refrigeración.**

- Las temperaturas de almacenamiento han sido entre 2 a 8 °C (4), de 2 a 6°C (6) y 4°C hasta 7 días, las experiencias mencionan que no se ha encontrado diferencia significativa al compararlo con los productos criopreservados (15).
- No se requiere laboratorio ni personal con experiencia comparado con la criopreservación.

#### **10. Almacenamiento de producto colectado (células CD34+) en criopreservación (figura 6).**

- Se realiza a la temperatura de < -140 °C; se recomienda el nivel mínimo de viabilidad sea del 50% de las células nucleadas (6), otros autores mencionan mayor o igual al 70% (15).
- Método usado frecuentemente. Se usan diferentes concentraciones del dimetilsulfóxido (DMSO) al 10% y 5% (24).
- Se requiere laboratorio implementado y personal con experiencia.
- Se ha investigado el impacto de las concentraciones finales en el éxito del injerto. El uso de DMSO al 5% e hidroxietilalmidón (HES) al 6% proporciona mayor calidad del producto criopreservado comparado con el uso de DMSO al 10% y un menor tiempo para la recuperación de neutrófilos y plaquetas (24).

#### 11. **Recuento de células CD34+ en producto descongelado**

- No se realiza el recuento de células CD34+ de rutina en el producto descongelado antes del trasplante.
- Para realizar el recuento de células CD34+ viable se debe utilizar la plataforma única con el compuesto 7 amino actinomicina D (7AAD) para ver células viables. (13,15,22).
- Se ha visto una disminución de la concentración de células CD34+ durante el procedimiento de congelación y descongelación (24).

## CONCLUSIONES

- El recuento de células CD34+ es una herramienta que permite definir el inicio de la colecta de células madre hematopoyética de sangre periférica, se realiza el día 4 y/o 5 de iniciada la movilización, entre 1 a 2 horas de la administración del factor estimulante de colonias de granulocitos, la recolección se realiza cuando el recuento de células CD34+ se encuentra entre 10 cel/ul o 20 cel /ul según la institución.
- Existe una relación directamente proporcional entre el número de células CD34+ en la muestra pre colecta y las células CD34+ en el producto colectado.
- Colectas de células CD34+ realizados en pacientes mayor de 65 años alcanzaron a colectar  $2 \times 10^6$  células CD34+ por kilogramo de peso.
- La concentración mínima de células CD34+ en el producto colectado debe ser de  $2 \times 10^6$  / ul de cel CD34+ por kilogramo de peso, concentraciones  $>$  de  $4 \times 10^6$  son recomendables.
- Los equipos de aféresis pueden sobreestimar el volumen colectado, una buena práctica es realizar el pesaje del producto colectado para el recuento de células CD34+.
- El almacenamiento del producto colectado se puede realizar en refrigeración (2 a 8°C) o criopreservación ( $<140^\circ\text{C}$ ).



- Durante el proceso de criopreservación se ha encontrado una disminución de células CD34+.
- No se realiza el recuento de células CD34+ en el producto criopreservado por lo que debe implementarse metodologías que utilizan el compuesto 7 amino actinomicina D que nos permite cuantificar las células viables y no viables.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Enßle JC, Wolf S, von Metzler I, Weber S, Bialleck H, Seifried E, Serve H, Scheich S, Steffen B. High CD34 positive stem cell dosage improves thrombocyte recovery in obese myeloma patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*. 2021 Dec;62(13):3283-3287. doi: 10.1080/10428194.2021.1950707.
2. Al Hamed R, Bazarbachi AH, Malard F, Harousseau JL, Mohty M. Current status of autologous stem cell transplantation for multiple myeloma. *Blood Cancer J*. 2019 Apr 8;9(4):44. doi: 10.1038/s41408-019-0205-9.
3. Huang BH, Li J, Zou WY, Liu JR, Gu JL, Li XZ, Chen ML, Kuang LF. [Efficacy and safety of autologous hematopoietic stem cell transplantation in elderly multiple myeloma patients: a single center retrospective study]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2022 Feb 14;43(2):141-145. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2022.02.009.
4. Ray GK, Jena RK, Panda T, Sethy S. Prospective identification of potential factors influencing stem cell mobilization and the necessity for plerixafor use in newly diagnosed multiple myeloma patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2021 Oct-Dec;43(4):402-409. doi: 10.1016/j.htct.2020.04.011.
5. Aladağ Karakulak E, Demiroğlu H, Büyükaşık Y, Turgut M, Aksu S, Sayinalp N, Haznedaroğlu IC, Özcebe OI, Göker H. CD34+ hematopoietic progenitor cell dose as a predictor of engraftment and survival in multiple

- myeloma patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Turk J Med Sci.* 2020 Dec 17;50(8):1851-1856. doi: 10.3906/sag-2001-173.
6. Sauer S, Pavel P, Schmitt A, Cremer M, Kriegsmann M, Bruckner T, Jordan K, Wuchter P, Müller-Tidow C, Kriegsmann K. Low-dose peripheral blood stem cell graft after high-dose chemotherapy - an evaluation of hematopoietic reconstitution. *BMC Cancer.* 2020 Apr 25;20(1):353. doi: 10.1186/s12885-020-06873-7.
  7. Knudsen LM, Nikolaisen K, Gaarsdal E, Johnsen HE. Kinetic studies during peripheral blood stem cell collection show CD34+ cell recruitment intra-apheresis. *J Clin Apher.* 2001;16(3):114-9. doi: 10.1002/jca.1021.
  8. Combariza , Barco G, Estrada A, Jaramillo S, Arango M. Recuento de células CD34+ en sangre periférica como predictor de adecuada recolección de progenitores hematopoyéticos para trasplante autólogo. *IATREIA Vol 29(4): 424-432 octubre-diciembre 2016.* DOI: 10.17533/udea.iatreia.v29n4a04.
  9. Kushwaha N, Kumar S, Sheikh MA, Philip J, Sharma S, Biswas AK, Joshi RK. Association of CD 34 positive cell dose with engraftment kinetics in autologous peripheral blood stem cell transplant patients of multiple myeloma. *Med J Armed Forces India.* 2022 Jul;78(3):296-301. doi: 10.1016/j.mjafi.2021.01.015.
  10. Ntanasis-Stathopoulos I, Gavriatopoulou M, Kastritis E, Terpos E, Dimopoulos MA. Multiple myeloma: Role of autologous transplantation. *Cancer Treat Rev.* 2020 Jan;82:101929. doi: 10.1016/j.ctrv.2019.101929.

11. Nakamura Y, Okubo M, Furuta Y, Tokida M, Ichikawa K, Ohsaka A. Impact of CD34+ pre-counting and plerixafor on autologous peripheral blood stem cell collection in Japanese university hospitals in eight years. *Transfus Apher Sci.* 2019 Dec;58(6):102664. doi: 10.1016/j.transci.2019.10.006.
12. Murugesan M, Shringarpure K, Karthickeyan DSA, Nair CK, Nayanar SK, Venugopal V, Selvaraj K, Rathi P, Mehta KG, Deenathayalan V, Gayathiri KC. Clinical and equipment-related factors associated with the adequate peripheral blood stem cell collection in autologous transplant at a tertiary cancer center in Kerala - A retrospective cohort study. *Transfus Apher Sci.* 2019 Aug;58(4):457-463. doi: 10.1016/j.transci.2019.05.007.
13. Turunen A, Silvennoinen R, Partanen A, Valtola J, Siitonen T, Putkonen M, Sankelo M, Pyörälä M, Kuittinen T, Penttilä K, Sikiö A, Savolainen ER, Mäntymaa P, Pelkonen J, Varmavuo V, Jantunen E. Autograft cellular composition and outcome in myeloma patients: Results of the prospective multicenter GOA study. *Transfusion.* 2021 Jun;61(6):1830-1844. doi: 10.1111/trf.16424. Epub 2021 May 6. PMID: 33955591.
14. Noiperm P, Julamanee J, Viboonjuntra P, Lekhakula A. Non-Cryopreserved Peripheral Blood Stem Cell Graft for Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma and Lymphoma Patients. *Ann Transplant.* 2023 Jan 17;28:e938595. doi: 10.12659/AOT.938595.
15. Rimac V, Bojanić I. Role of flow cytometry in evaluation of the cellular therapy products used in haematopoietic stem cell transplantation. *Int J Lab Hematol.* 2022 Jun;44(3):446-453. doi: 10.1111/ijlh.13849.

16. García León E.M.. Supervivencia libre de progresión y supervivencia global en pacientes con Mieloma Múltiple sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras en INEN-2012-2017. Trabajo académico para optar por el título de especialista en Medicina Oncológica. Repositorio Académico de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. (2019). 37 p. <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/6673>.
17. Seminario Marcelo V.E. Características Morfológicas de células plasmáticas en mieloma múltiple asociadas con pronóstico adverso en un hospital público de Lima, Perú. 2018-2019. Proyecto de investigación para optar por el título de segunda especialidad profesional en Hematología. Repositorio Académico de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. (2023). 34 p. <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/14180>.
18. Flores del Carpio, K.R.. Efectividad y seguridad del esquema de tratamiento con Bortezomib para Mieloma Múltiple Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren 2016-2018 proyecto de investigación para optar el título de segunda especialidad en hematología. Perú. Repositorio Académico de la Universidad de San Martín de Porres. (2021). 36 p. <https://repositorio.usmp.edu.pe/handle/20.500.12727/9096>.
19. Jara-Segura E, Jensen-Gamboa E. Recuento de células CD34+ por citometría de flujo. Rev. Colegio de Microb. Quim. Clin. de Costa Rica, Vol 24, N° 2, mayo – agosto 2018. <http://revista.microbiologos.cr/articulo/recuento-de-celulas-cd34-por-citometria-de-flujo/>

20. Dolai TK, De R, Sen A, Baul SN, Mitra S, Bhattacharya S, Mondal I, Mukhopadhyay K, Chattopadhyay A, Dutta S, Mandal PK. Pattern of autologous stem cell transplants at a tertiary care government hospital, with emphasis on transplant outcomes with pre-harvest CD34+ level. *Blood Cell Ther.* 2022 Feb 18;5(1):16-26. doi: 10.31547/bct-2021-010.
21. Couzin C, Manceau S, Diana JS, Joseph L, Magnani A, Magrin E, Amrane H, Dupont E, Raphalen JH, Sibon D, Marcais A, Suarez F, Cavazzana M, Lefrère F, Delville M. Vascular access for optimal hematopoietic stem cell collection. *J Clin Apher.* 2021 Feb;36(1):12-19. doi: 10.1002/jca.21828.
22. Anu P, Antti T, Raija S, Marja P, Jaakko V, Timo S, Mervi P, Marja S, Anu S, Karri P, Taru K, Jukka P, Pentti M, Esa J, Ville V. Comparison of CD34+ cell mobilization, blood graft cellular composition, and post-transplant outcome in myeloma patients mobilized with filgrastim or pegfilgrastim added to low-dose cyclophosphamide: A prospective multicenter study. *Transfusion.* 2021 Nov;61(11):3202-3212. doi: 10.1111/trf.16645.
23. Rico LG, Salvia R, Ward MD, Bradford JA, Petriz J. Flow-cytometry-based protocols for human blood/marrow immunophenotyping with minimal sample perturbation. *STAR Protoc.* 2021 Oct 11;2(4):100883. doi: 10.1016/j.xpro.2021.100883.
24. Belisário AR, da Costa Funes AP, Luz JR, de Almeida Costa L, Furtado MDSBS, Martins MC, Cruz NG, Pederzoli PRMP, de Andrade RK, Libânio MRIS, de Lima Prata K. Influence of laboratory procedures on postthawing cell viability and hematopoietic engraftment after autologous peripheral

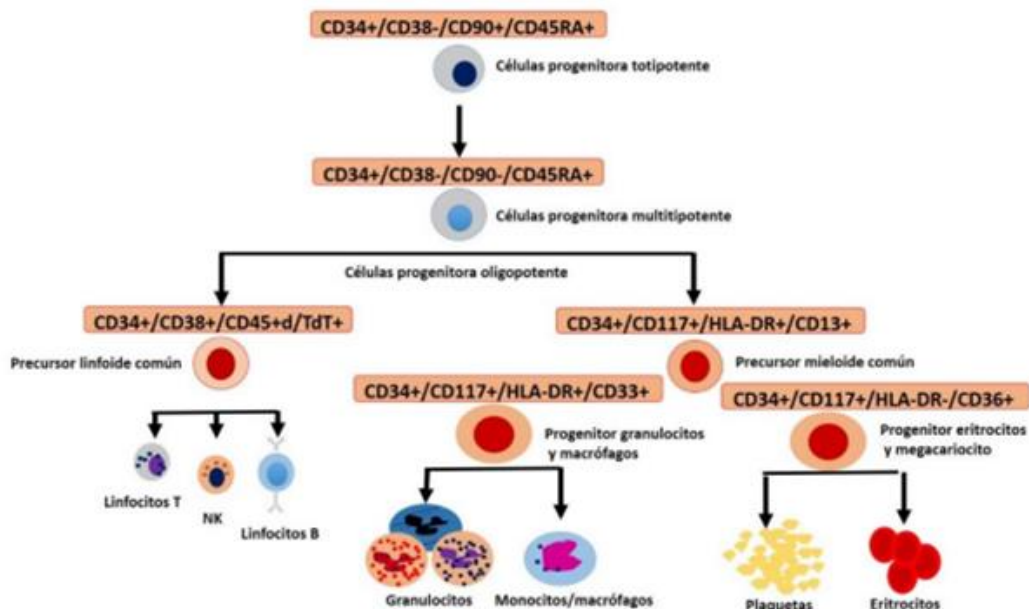
- blood stem cell transplantation. *Transfusion*. 2021 Apr;61(4):1202-1214. doi: 10.1111/trf.16289.
25. Pawlyn C, Cairns D, Menzies T, Jones J, Jenner M, Cook G, Boyd K, Drayson M, Kaiser M, Owen R, Gregory W, Morgan G, Jackson G, Davies F. Autologous stem cell transplantation is safe and effective for fit older myeloma patients: exploratory results from the Myeloma XI trial. *Haematologica*. 2022 Jan 1;107(1):231-242. doi: 10.3324/haematol.2020.262360
26. Chung Y, Kong JH, Hu Y, Lee SN, Shim H, Eom HS, Kong SY. Comparison of spectra optia and amicus cell separators for autologous peripheral blood stem cell collection. *J Clin Apher*. 2021 Feb;36(1):28-33. doi: 10.1002/jca.21835.
27. Khouri J, Rybicki L, Majhail NS, Kalaycio M, Pohlman B, Hill B, Jagadeesh D, Dean R, Hamilton B, Sobecks R, Koo A, Liu H. Body mass index does not impact hematopoietic progenitor cell mobilization for autologous hematopoietic cell transplantation. *J Clin Apher*. 2019 Dec;34(6):638-645. doi: 10.1002/jca.21739.
28. Deeren D, Neyrinck M, Vrielink H. Apheresis machines variably overestimate mononuclear cell collection volume. *J Clin Apher*. 2020 Aug;35(4):290-293. doi: 10.1002/jca.21789.
29. Movilización y aféresis de las células madre hematopoyéticas: Guía práctica para el personal de enfermería y otros profesionales de la atención. Grupo europeo de trasplante sanguíneo y de médula ósea (EBMT). [Internet].

[Consultado el 12 de noviembre de 2023]. Disponible en <https://www.ammtac.org/docs/articulos/MOVILIZACION%20TMO.pdf>.



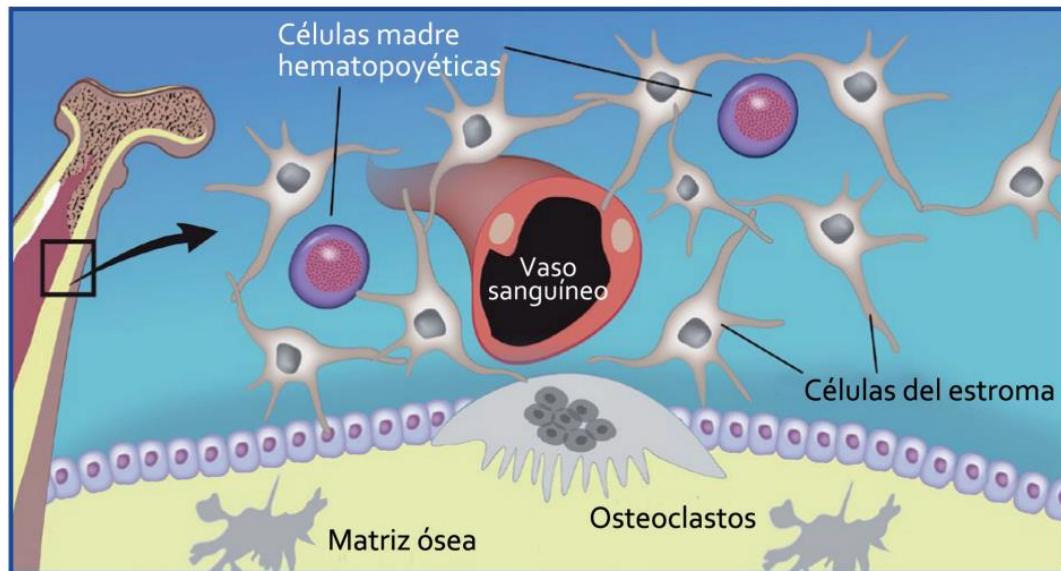
## ANEXOS

Figura 1. **Las células madre hematopoyéticas** poseen la capacidad de autorrenovación y potencial de generar todos los diversos linajes hematológicos. Durante la diferenciación primero pierden la capacidad de autorrenovación, posteriormente se van comprometiendo a la formación de cierto linaje maduro. Durante este proceso la expresión de proteínas va cambiando y genera poblaciones con diferente fenotipo (19).



Fuente: Jara-Segura E, Jensen-Gamboa E. Recuento de células CD34+ por citometría de flujo. Rev. Colegio de Microb. Quim. Clin. de Costa Rica, Vol 24, N° 2, mayo – agosto 2018.

Figura 2. **Movilización.** La hematopoyesis es la producción de los componentes celulares de la sangre. En adultos, se produce fundamentalmente en la médula ósea contenida en la pelvis, el esternón, la columna vertebral y el cráneo, de manera específica en el microambiente de la médula ósea. La pérdida de unión de las células madre a las células del estroma, junto con la pérdida de actividad del SDF-1 $\alpha$ , lo que favorece la liberación de las células madre en la circulación periférica. El bloqueo de este receptor con un antagonista de quimiocinas (como el Plerixafor) ha elevado las células madre hematopoyéticas circulantes y ayudado a la recogida de células madre en pacientes (29).



Fuente. Movilización y aféresis de las células madre hematopoyéticas: Guía práctica para el personal de enfermería y otros profesionales de la atención. Grupo europeo de trasplante sanguíneo y de médula ósea (EBMT). [Internet]. [Consultado el 12 de noviembre de 2023]. Disponible en <https://www.ammtac.org/docs/articulos/MOVILIZACION%20TMO.pdf>.

Figura 3. Estrategia para el análisis de células madre hematopoyéticas de células CD34+ para una sola plataforma utilizando el protocolo ISHAGE modificado. ISHAGE, Sociedad Internacional de Hemoterapia e Ingeniería de Injertos (15).

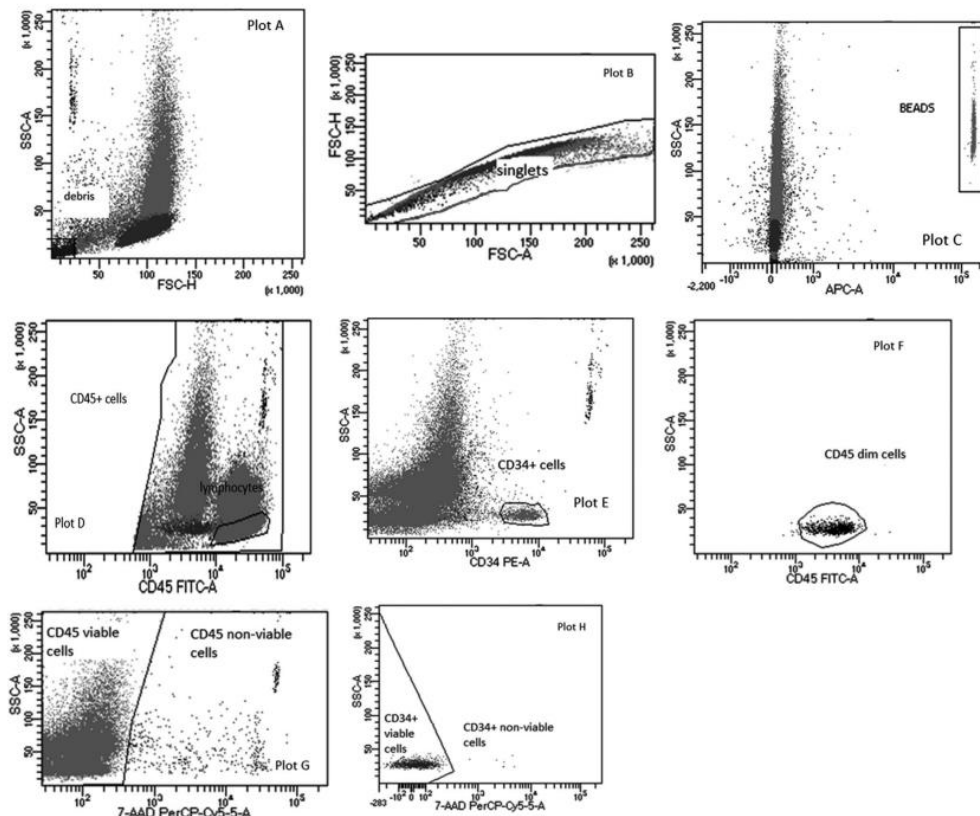
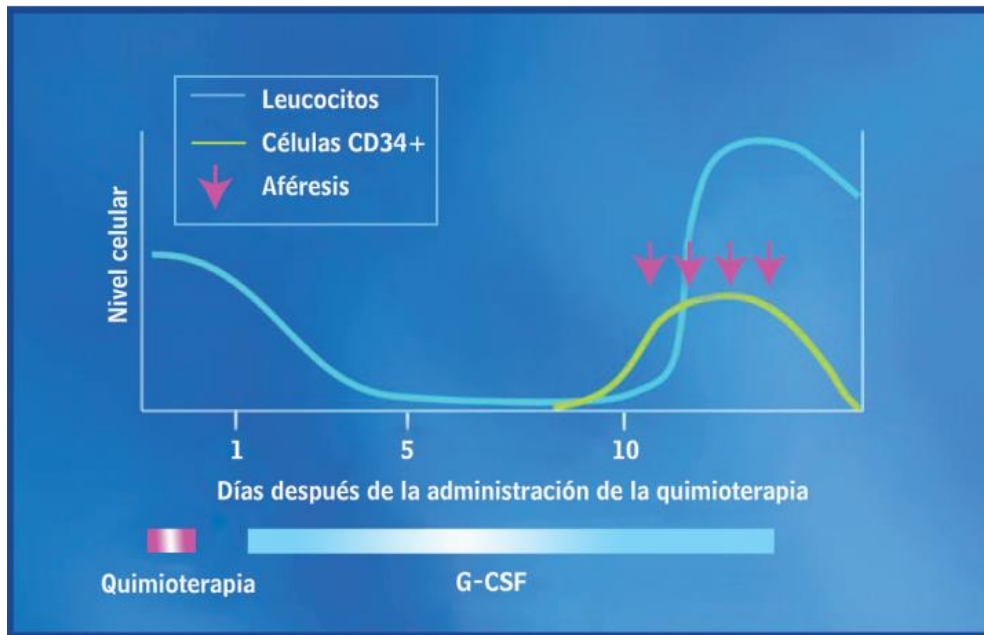


FIGURE 1 Gating strategy for analysis of CD34+ cells haematopoietic stem cells for single platform using modified ISHAGE protocol. ISHAGE, International Society of Hemotherapy and Graft Engineering

Fuente. Rimac V, Bojanić I. Role of flow cytometry in evaluation of the cellular therapy products used in haematopoietic stem cell transplantation. Int J Lab Hematol. 2022 Jun;44(3):446-453.

Figura 4. **Cinética generalizada de la movilización de leucocitos y de células CD34+ en la sangre periférica** después de quimioterapia y administración de citocinas. Ambos mecanismos inducen el aumento de las concentraciones circulantes de células madre hematopoyéticas debido a la alteración del microambiente de la médula ósea (29).



G-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos.

Fuente. Movilización y aféresis de las células madre hematopoyéticas: Guía práctica para el personal de enfermería y otros profesionales de la atención. Grupo europeo de trasplante sanguíneo y de médula ósea (EBMT). [Internet]. [Consultado el 12 de noviembre de 2023]. Disponible en <https://www.ammtac.org/docs/articulos/MOVILIZACION%20TMO.pdf>.

Figura 5. **Cinética de células CD34+**. Todos los pacientes mostraron una disminución del recuento de células CD34+ en la sangre durante las primeras 2 horas de leucaféresis, pero en siete de nueve, hubo un aumento de las células CD34+ en la sangre hacia el final del procedimiento. Número absoluto de células CD34+  $\times 10^3/\text{ml}$  de sangre durante la leucoféresis en nueve pacientes (7).

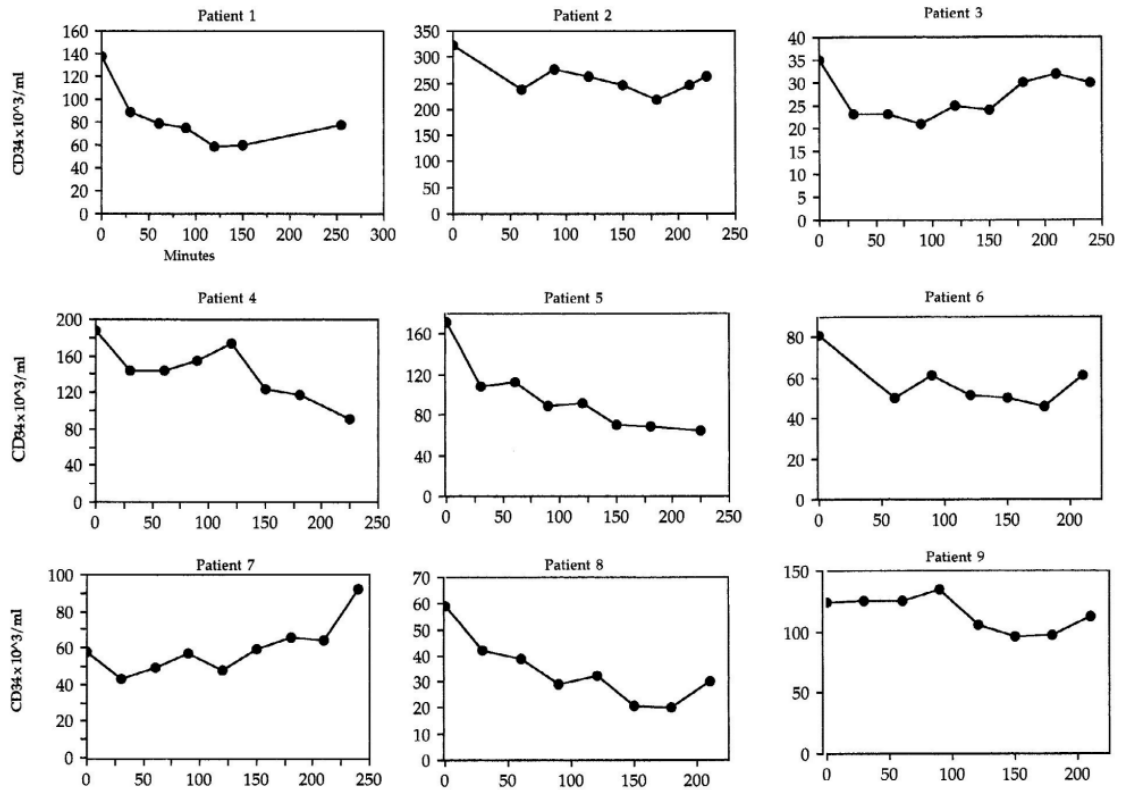
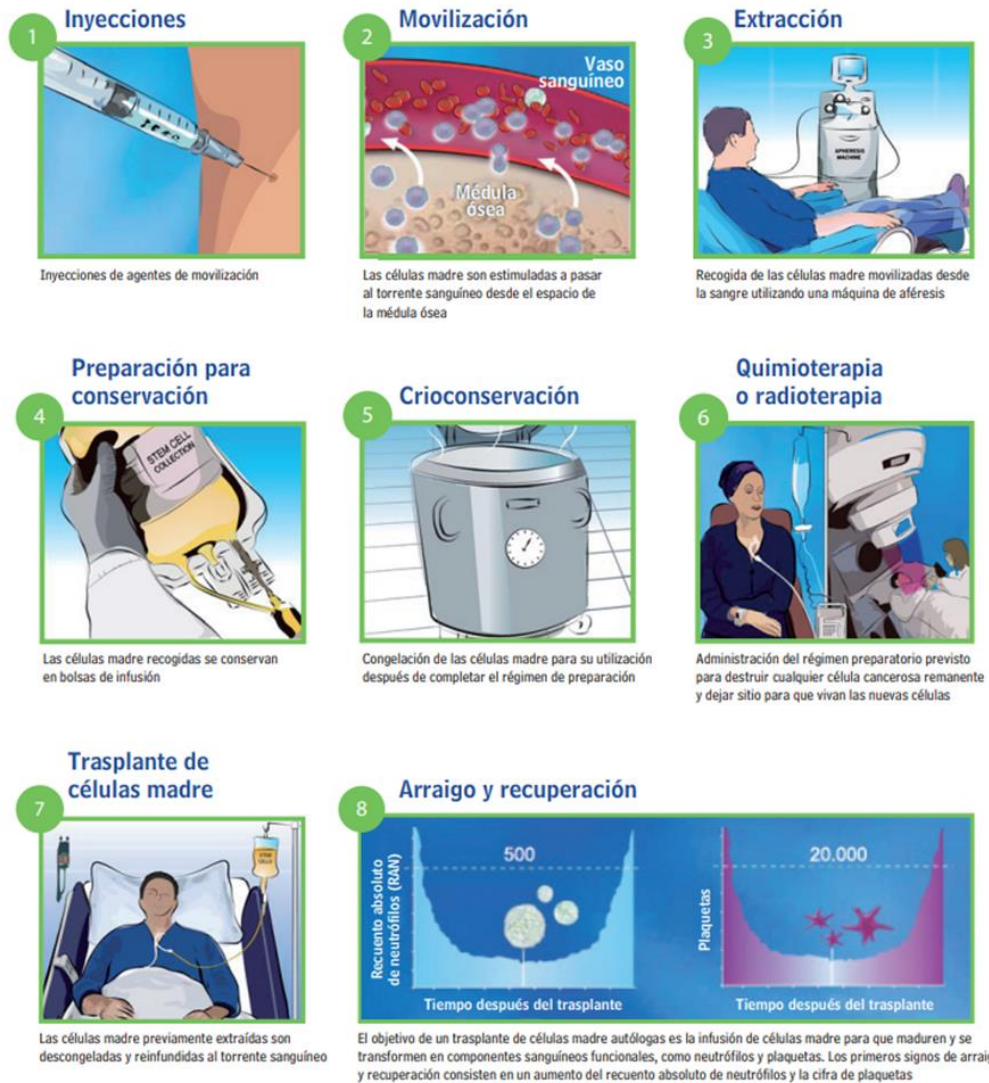


Figura 1. Número absoluto de células CD34+  $\times 10^3/\text{ml}$  de sangre durante la leucoféresis en nueve pacientes.

Fuente. Knudsen LM, Nikolaisen K, Gaarsdal E, Johnsen HE. Kinetic studies during peripheral blood stem cell collection show CD34+ cell recruitment intra-apheresis. *J Clin Apher.* 2001;16(3):114-9. doi: 10.1002/jca.1021

Figura 6. **El proceso de trasplante de las células madre.** El proceso de trasplante de células madre puede resumirse en ocho fases distintas (29).



Fuente. Movilización y aféresis de las células madre hematopoyéticas: Guía práctica para el personal de enfermería y otros profesionales de la atención. Grupo europeo de trasplante sanguíneo y de médula ósea (EBMT). [Internet]. [Consultado el 12 de noviembre de 2023]. Disponible en <https://www.ammtac.org/docs/articulos/MOVILIZACION%20TMO.pdf>.