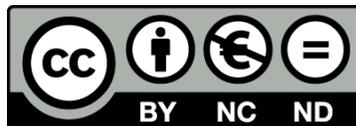




UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Obtención de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica: Estrategias de optimización de movilización y aféresis

Irene García García



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – SinObraDerivada 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0. Spain License.**



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

CLÍNIC
BARCELONA
Hospital Universitari

 Hospital Universitario
Ramón y Cajal
SaludMadrid

Obtención de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica: Estrategias de optimización de movilización y aféresis

Memoria de tesis doctoral presentada por **Irene García García** para optar al grado de doctora por la Universidad de Barcelona

Dirigida por:

Dr. Joan Cid Vidal, Unidad de aféresis, Servicio de Hemoterapia y Hemostasia, Hospital Universitario Clínic de Barcelona. Universidad de Barcelona.

Dr. Francisco Javier López Jiménez, Servicio de Hematología y hemoterapia, Hospital Universitario Ramón y Cajal. Universidad de Alcalá de Henares, Madrid.

Tutorizada por:

Dr. Miquel Lozano Molero, Unidad de aféresis, Servicio de Hemoterapia y Hemostasia, Unidad de aféresis, Hospital Universitario Clínic de Barcelona. Universidad de Barcelona.

Programa de doctorado Medicina e Investigación Traslacional.

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad de Barcelona.

Marzo de 2023

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres el gran apoyo que han sido para mí durante todo mi desarrollo como estudiante y como médico, ayudándome en todo momento y siendo siempre los pilares fundamentales de mi educación.

Quisiera agradecer también a todas las personas que me han acompañado durante mi trayectoria en la realización de esta tesis doctoral y que han participado de manera directa o indirecta en el desarrollo de este trabajo, especialmente a los equipos médicos y de enfermería de las unidades de aféresis del Hospital Clínic y del Hospital Ramón y Cajal.

Especial mención quisiera hacer a mis directores de tesis, los doctores Joan Cid y Francisco Javier López, por dirigir esta tesis doctoral, así como por su ayuda constante y consejos para su realización. Agradecer al Dr. Joan Cid haberme brindado la oportunidad de rotar en el Servicio de Hemoterapia y Hemostasia del Hospital Clínic, haberme enseñado tanto sobre los procedimientos de aféresis y terapia celular, conocimientos que sin duda han servido de base para el desarrollo de esta tesis doctoral.

Agradecer al Dr. López haberme permitido y ayudado a desarrollar esta labor de investigación en el Hospital Ramón y Cajal y haber depositado su confianza en mí durante mi formación como residente y durante mi trabajo posterior como facultativo en este hospital.

A mi tutor de tesis, el Dr. Miquel Lozano quisiera agradecerle los muchos consejos que me dio durante mi estancia formativa en el Hospital Clínic, así como su ayuda y supervisión para la elaboración de este trabajo.

Y, por último, quisiera agradecer a mi marido Roberto el apoyo incondicional que ha sido para mí durante todos estos años.

FINANCIACIÓN

No ha habido fuentes de financiación para la realización de ninguno de los trabajos ni estudios que abarca esta tesis doctoral.

ÍNDICE

Abreviaturas y acrónimos	8
Enumeración de los artículos de la tesis.....	9
Resumen de la tesis doctoral.....	10
Introducción.....	14
Hipótesis.....	40
Objetivos.....	41
Material, métodos y resultados.....	42
Discusión	55
Conclusiones.....	66
Bibliografía.....	67

Abreviaturas y acrónimos

TPH: Trasplante de progenitores hematopoyéticos
PHSP: Progenitores hematopoyéticos de sangre periférica
G-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos
CE: Eficiencia
VST: Volumen de sangre total
MM: Mieloma Múltiple
LNH: Linfoma no Hodgkin
LH: Linfoma de Hodgkin
SLP: Supervivencia libre de progresión
LMA: Leucemia Mieloide Aguda
LLA: Leucemia linfoblástica aguda
SG: Supervivencia global.
AMA: Acondicionamiento mieloablativo
AIR: Acondicionamiento de intensidad reducida
CAR-T: Chimeric Antigen Receptor T
PH: Progenitores hematopoyéticos
HLA: Human Leukocyte antigen
CVC: Catéter venoso central
VVP: Vía venosa periférica
DNE: Donante no emparentado
EICR: Enfermedad injerto contra receptor
CMV: Citomegalovirus
ACD-A: Dextrosa de citratato ácido

ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS DE LA TESIS

La tesis consta de 4 objetivos y 2 artículos:

1. Irene García-García, Joan Cid, Gloria Carbassé, Javier López-Jiménez, Gemma Moreno, Miquel Lozano. Comparison between standard and high dose of G-CSF for mobilization of hematopoietic progenitors cells in patients and healthy donors. *Transfusion Medicine Reviews*. 2022 Jul;36(3):159-163.

Factor de impacto 2021: 6.969

Cuartil 2021: 1

2. Irene García-García, Joan Cid, Gemma Moreno-Jiménez, María Tenorio, Ana Jiménez, Ana Vallés, Kyra Velázquez-Kennedy, Miquel Lozano, Francisco-Javier López-Jiménez. Prediction of blood volume to be processed to achieve a target number of CD34+ cells: development, validation, and implementation of a formula. *Vox Sanguinis*. 2023;1–8.

Factor de impacto 2021: 2.996

Cuartil 2021: 3

RESUMEN DE LA TESIS DOCTORAL

Título:

Obtención de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica: Estrategias de optimización de movilización y aféresis.

Introducción:

En el momento actual el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) tanto autólogo como alogénico, constituye un tratamiento fundamental para muchas enfermedades hematológicas y también una opción terapéutica para algunas enfermedades no hematológicas. Actualmente, la fuente de progenitores hematopoyéticos más utilizadas son los progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (PHSP), obtenidos mediante un protocolo de movilización y posterior aféresis de los mismos. Para la movilización de PHSP el fármaco más utilizado es el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). La dosis estándar utilizada para la movilización es de 10 µg/Kg/día durante 4-6 días. En la actualidad no hay consenso sobre si dosis superiores de G-CSF podrían ser útiles para optimizar la movilización de PHSP, sobre todo en individuos con factores predisponentes de mala movilización.

Por otro lado, para la realización de la aféresis de PHSP es necesario un separador celular en el que procesar un volumen determinado de sangre del individuo. El número de volemias estándar a procesar en muchos centros es de 3. Sin embargo, procesando un número de volemias fijo en el separador podemos cometer errores de infraestimación, de tal forma que no recolectemos una cantidad adecuada de células CD34+.

Hipótesis:

- Las dosis altas de G-CSF (superiores a 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$) administradas para la movilización de PHSP, no incrementan la cantidad de células CD34+ movilizadas desde la médula ósea a sangre periférica.
- La predicción de la cantidad de sangre total a procesar con la fórmula de la CE2 optimiza los procesos de aféresis de PHSP.

Objetivos:

- Comparar la cantidad de células CD34+ movilizadas desde médula ósea a sangre periférica en donantes que reciben dosis estándar y dosis altas de G-CSF.
- Elaborar una fórmula basada en la eficiencia de recolección (CE2) que permita calcular de manera individualizada cuantas volemias es necesario procesar en cada aféresis.
- Comprobar la capacidad de predicción de esta fórmula.
- Evaluar el resultado de su implementación en la práctica clínica habitual.

Métodos:

Para la comparación de los datos de movilización de células CD34+, realizamos un análisis multicéntrico retrospectivo de los procedimientos de movilización de PHSP en pacientes y donantes sanos, comparando individuos que recibieron dosis estándar de G-CSF (10 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$ durante 4 días en pacientes y donantes sanos) y los que recibieron dosis altas (24 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$ durante 4 días en pacientes y 16 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$ durante 4 días en donantes sanos).

Por otro lado, para el desarrollo de una fórmula para calcular el número de volemias necesarias a procesar en cada individuo, calculamos la CE2 de las aféresis realizadas en el Hospital Ramón y Cajal entre enero de 2015 y marzo de 2020 en donantes sanos y pacientes. Desde mayo de 2020 hasta mayo de 2021, validamos una fórmula:

Volumen de sangre total (VST) a procesar = (Células objetivo CD34+ en el producto) / (Células CD34+ preaféresis x CE2) *100.

Posteriormente, comparamos los resultados de la implementación de esta fórmula (post-fórmula) con los resultados de los procedimientos realizados antes de su implementación (pre-fórmula), cuando todas las aféresis se realizaban procesando un VST equivalente a 3 volemias del individuo.

Resultados principales:

En el estudio comparativo de dosis de G-CSF se incluyeron 496 individuos (201 dosis estándar y 295 dosis altas). No encontramos diferencias significativas en la mediana del número de células CD34+ movilizadas/mL, ni entre donantes sanos (77 100 vs 75 500 respectivamente, $p = 0,895$), ni en pacientes (34 270 vs 33 704 respectivamente, $p = 0,584$) entre dosis estándar y dosis altas respectivamente. Realizamos también un subanálisis entre aquellos con la misma patología subyacente, sin encontrar tampoco diferencias entre la dosis estándar y las dosis altas. Por otro lado, las dosis altas de G-CSF no se asociaron con una menor incidencia de movilizadores deficientes (<20 000 células CD34+/ml) ni en donantes sanos (1 [1,3 %] vs 0; $p = 0,218$) ni en pacientes (30 [24,4 %] vs 32 [18,1%]; $p = 0,165$).

En cuanto a los resultados de desarrollo e implementación de la fórmula de volemias a procesar, en primer lugar, se realizó el cálculo de la CE2 en 384 aféresis. La CE2 fue mayor en los donantes sanos que en los pacientes ($53\pm 17\%$ vs $48\pm 15\%$; $p=0,008$). La CE2 fue mayor en paciente con Mieloma Múltiple (MM) y pacientes con Linfoma no Hodgkin (LNH) que en pacientes con Linfoma de Hodgkin (LH) ($48\pm 15\%$, $48\pm 15\%$ y $42\pm 13\%$ respectivamente; $p=0,008$). Posteriormente, aplicando los valores calculados previamente de las CE2 creamos nuestra fórmula de VST a procesar (disponible en un sitio web: [Publisheet](#)). La fórmula se utilizó prospectivamente en 54 individuos. Comprobamos que la fórmula fue muy precisa: El coeficiente de correlación entre las células CD34+/Kg predichas por la fórmula y las recolectadas realmente tuvo un valor r de 0,89 ($p < 0,0001$). Posteriormente comparamos los resultados de la

implementación de la fórmula (post-fórmula) con los de las aféresis realizadas en 78 individuos pre-fórmula. En el grupo post-fórmula se procesó mayor VST en pacientes y menor VST en donantes sanos. Entre los menores de 60 años fue significativamente menos frecuente la necesidad de más de una aféresis en el grupo post-fórmula.

Conclusiones:

En nuestro estudio, las dosis elevadas de G-CSF no consiguieron una mejora en cuanto a la movilización de PHSP respecto a las dosis estándar.

En cuanto al desarrollo y validación de una fórmula para calcular las volemias que es necesario procesar de manera individualizada, gracias a nuestro estudio comprobamos que su implementación permitió una disminución en el número de aféresis necesarias para recolectar un número objetivo de células CD34+/kg. Estos resultados sugieren un beneficio potencial en la disminución del gasto de recursos y beneficios potenciales para los pacientes y donantes sanos que se someten a los procedimientos de aféresis.

INTRODUCCIÓN

1. Importancia actual del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) en el tratamiento de enfermedades hematológicas y no hematológicas. Indicaciones principales.

El TPH autólogo o alogénico es una modalidad de tratamiento ampliamente extendido para enfermedades hematológicas y también para enfermedades no hematológicas. A continuación, expondremos por apartados cuáles son sus principales indicaciones, diferenciando entre el trasplante autólogo y el trasplante alogénico.

1.1 TPH autólogo

1.1.1 TPH autólogo en Mieloma Múltiple

El TPH autólogo es actualmente el tratamiento estándar de elección como consolidación en primera línea en pacientes jóvenes menores de 65 años con MM candidatos a TPH. En numerosos estudios se ha demostrado que su uso después de la administración de tratamiento con quimioterapia mejora las tasas de supervivencia libre de progresión (SLP). (1)

1.1.2 TPH autólogo en Linfoma de Hodgkin

Su indicación está establecida en casos de recaída o refractarios a la primera línea de tratamiento tras realizar un tratamiento de rescate que no tenga demasiada toxicidad para poder permitir posteriormente la recogida celular. En

estos casos el TPH autólogo se asocia con baja mortalidad y una elevada SLP.
(2)

1.1.3 TPH autólogo en Linfoma no Hodgkin

En el caso de pacientes con linfoma no Hodgkin (LNH), el TPH autólogo constituye el tratamiento de elección en segunda o posteriores líneas en función de la variedad de linfoma. A continuación, detallaremos su principal indicación según cada patología:

- Linfoma folicular: Está indicado en pacientes que han tenido una respuesta corta al tratamiento previo con inmuno-quimioterapia, en pacientes con un *Follicular Lymphoma International Prognostic Index* elevado, así como en segundas y posteriores recaídas.(3)
- Linfoma linfoplasmocítico: Tiene indicación en casos de recaída.(4)
- Linfoma de células del Manto: Está indicado en primera línea de pacientes candidatos a tratamiento intensivo tras quimio-inmunoterapia. Aunque no es un tratamiento curativo, en estos casos el TPH autólogo aporta mejoría en SLP y supervivencia global (SG).(5)
- Linfoma B difuso de células grandes: Tratamiento estándar en casos en recaída o refractarios como parte de la segunda línea de tratamiento.
- Linfoma cerebral primario: Tratamiento de consolidación de elección en primera línea en pacientes que sean candidatos. Se ha visto que incluso pacientes de edad avanzada pueden beneficiarse de este procedimiento.(6)
- Linfoma T periférico ganglionar: Indicado en pacientes en recaída o refractarios.(7)
- Linfoma T/NK nasal: Opción terapéutica para para pacientes en recaída o refractarios en segunda línea.(8)

1.1.4 TPH autólogo en enfermedades autoinmunes

Las enfermedades autoinmunes constituyen un grupo muy heterogéneo de enfermedades que pueden afectar a diferentes órganos y sistemas. Su tratamiento se centra en el uso de agentes inmunosupresores e inmunomoduladores que en muchos casos consiguen controlar la enfermedad a corto plazo. Sin embargo, el control a largo plazo o la curación no es posible en casos graves. En estos últimos es donde tiene un papel relevante el TPH autólogo. Con este tratamiento se modifica el sistema inmune del paciente, lo cual puede llevar a la curación de la enfermedad autoinmune. Su utilización está indicada en esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico y enfermedades inflamatorias intestinales: enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.(9)(10)

1.2 TPH alogénico

El TPH alogénico es una modalidad de tratamiento que constituye una opción curativa en una amplia variedad de patologías. Según cada caso también varía el momento más adecuado para su utilización.

1.2.1 TPH alogénico en leucemia mieloide aguda

En el caso de la leucemia mieloide aguda (LMA) es el tratamiento de elección en pacientes de riesgo intermedio y de riesgo alto. En el caso de que sea posible por la situación basal del paciente, los regímenes de acondicionamiento mieloablativos (AMA) son de elección frente a los regímenes de intensidad de reducida (AIR) que se reservarán para aquellos casos en los que la situación basal del paciente no nos permita utilizar la primera opción.(11)

1.2.2 TPH alogénico en leucemia linfoblástica aguda

En el caso de la leucemia aguda linfoblástica (LLA), tradicionalmente el TPH alogénico se recomendaba en todos los pacientes candidatos en primera

remisión completa. Sin embargo, en los últimos años, debido al avance el tratamiento de primera línea, con uso cada vez más extendido en pacientes jóvenes de tratamientos pediátricos, ha dado lugar a que el trasplante alogénico no se tenga que utilizar en todos los casos, siendo la enfermedad mínima residual el principal factor determinante para determinar si se debe realizar o no el trasplante.(12)

1.2.3 TPH alogénico en MM

El tratamiento del MM ha evolucionado mucho en los últimos años. Cada vez hay una gama más amplia de agentes inmunomoduladores y otros fármacos con un alta actividad y especificidad para esta enfermedad. Como ya hemos comentado, el TPH autólogo es de elección en primera línea en pacientes candidatos, por lo que la utilización del TPH alogénico siempre será posterior a este. Para el tratamiento del MM en recaída también existen una amplia variedad de opciones terapéuticas, entre ellas el rescate con terapia CAR-T. Es por ello por lo que el TPH alogénico cada vez se utiliza menos. Su papel solo está indicado en casos en recaída o refractarios tras varias líneas de tratamiento en pacientes refractarios a inhibidores del proteasoma e inmunomoduladores.

1.2.4 TPH alogénico en LH

Está indicada su utilización en pacientes en recaída tras el TPH autólogo. Esta situación es de muy mal pronóstico, con tasas de SG inferiores a los 2 años. Antes del trasplante se debe de realizar tratamiento puente con quimio-inmunoterapia.(13)

1.2.5 TPH alogénico en LNH

Aunque las nuevas terapias cada vez están desplazando más al TPH alogénico en el tratamiento de la mayoría de linfomas, su papel aún tiene cabida en muchos

de ellos, siendo su momento y su indicación diferente en función del tipo de linfoma:

- Linfoma folicular: Se reserva su utilización para paciente en recaída tras TPH autólogo. Se suelen utilizar AIR. Es la única opción curativa para esta patología. (14)
- Linfoma linfoplasmocítico: El TPH alogénico solo tiene indicación en pacientes jóvenes con enfermedades agresivas en situación de recaída o refractariedad.(15)
- Linfoma de células del Manto: Dado que el TPH autólogo se considera una opción de primera línea en esta variedad de linfoma, la mayoría de los TPH alogénicos se llevan a cabo después de haber recibido el TPH autólogo. Su indicación está en la recaída o refractariedad tras la primera línea. Es la única opción curativa.(16)
- Linfoma B difuso de células grandes: El papel del TPH alogénico ha sido habitualmente establecido en la recaída posterior al TPH autólogo, después de quimioterapia de rescate. Si embargo, con los últimos avances en la terapia celular Chimeric Antigen Receptor T (CAR-T), actualmente solo se recomienda en casos en recaída post-CAR-T o en pacientes no candidatos a CAR-T. (17)
- Linfoma T periférico ganglionar: El TPH alogénico se reserva para los casos en recaída posterior al TPH autólogo después de quimioterapia de rescate.

2. Modalidad de trasplante

2.1 Modalidad según la intensidad del acondicionamiento

Para la realización de cualquier TPH, independientemente de cuál sea la fuente de progenitores hematopoyéticos (PH), el tipo de donante o la indicación, es necesario realizar un tratamiento previo de acondicionamiento. Este tratamiento consiste en la administración de agentes quimioterápicos, combinados o no con radioterapia, con el objetivo de eliminar cualquier rastro de enfermedad mínima

residual que pueda quedar en la médula ósea, así como generar la inmunosupresión suficiente para que las células que infundimos puedan injertar en el nicho hematopoyético del paciente.

En función de las características basales del paciente y del tipo de enfermedad se pueden utilizar dos grupos principales de acondicionamiento:

- Acondicionamiento mieloablatoivo (AMA): Se trata del acondicionamiento de mayor intensidad, cuya intención es eliminar todo el sistema inmune del paciente. Esta modalidad es recomendable sobre todo en patologías con mayor riesgo de tener enfermedad mínima residual en el momento del trasplante y con mayor riesgo de recaída posterior. Hay que tener en cuenta que no podemos utilizarlo en todos los pacientes, solo en aquellos jóvenes y en condiciones óptimas para poder tolerar la toxicidad que este conlleva.
- Acondicionamiento de intensidad reducida (AIR): En esta modalidad se utilizan dosis diferentes de fármacos con una menor toxicidad medular. De esta manera permite beneficiarse del trasplante a pacientes más mayores y también a aquellos que por sus patologías basales no serían candidatos a un AMA.(18)

2.2 Modalidad según la fuente de progenitores hematopoyéticos

La obtención de progenitores hematopoyéticos (PH), que se identifican como células CD34+, puede realizarse mediante diferentes estrategias. Distinguimos tres grupos fundamentales según cuál es la fuente de PH.

2.2.1 Médula ósea

En este caso la extracción de PH se realiza mediante punciones repetidas en cresta iliaca posterior. Se trata de un procedimiento que debe realizarse en el quirófano bajo anestesia general. Habitualmente lo realizan dos hematólogos utilizando agujas con varios orificios laterales. El contenido medular recogido

debe depositarse en un contenedor con solución salina y heparina para evitar que el producto se coagule.

Debido a la dificultad de esta técnica, a la repercusión sobre el donante y también a los estudios obtenidos en los que se ha demostrado que la obtención de PHSP conduce a una mejor respuesta al TPH debido a una mayor asociación con injerto contra leucemia, hoy en día el TPH con obtención de PH de médula ósea solo se utiliza en casos aislados: TPH alogénico en aplasia medular y enfermedades no tumorales como anemia drepanocítica, o bien por la negativa del donante a querer realizar la donación por sangre periférica por no querer recibir el tratamiento previo de movilización.(19)

2.2.2 Sangre de cordón umbilical

Se trata de una fuente alternativa de PH. Comparado con las otras fuentes de PH, el TPH de cordón contiene una menor cantidad de PH y requiere una menor compatibilidad *Human Leukocyte antigen* (HLA),(20) sin embargo, precisamente por esta menor cantidad de PH, se asocia con un peor injerto, lo cual se traduce en una recuperación medular más tardía con aumento de riesgo de complicaciones infecciosas durante el trasplante. Para intentar solucionar este problema se han utilizado diferentes estrategias: Expansión de PH ex vivo, utilización de 2 unidades de cordón y trasplante dual combinando sangre de cordón y células CD34+ de donante HLA incompatible.

2.2.3 Sangre periférica

Consiste en la movilización y aféresis de PHSP. Esta última opción es actualmente la más utilizada debido a su mayor disponibilidad, seguridad para el donante y buenos resultados en el TPH (21)(22)(23)(24). Para su obtención no es necesario el empleo de anestesia general, por lo que la recuperación del donante (ya sea autólogo o alogénico) es rápida. Esta modalidad precisa de la administración previa de un tratamiento de movilización del que hablaremos en

más profundidad en los siguientes apartados. Para su realización es preciso disponer de separador celular y de un equipo de enfermería especializado en su manejo. La obtención de PH se puede realizar utilizando un catéter venoso central (CVC) así como con vías venosas periféricas (VVP), lo cual es de gran interés sobre todo en donantes sanos.

Nuestro trabajo está basado en esta modalidad de obtención de PH. Por un lado, hemos llevado un estudio sobre la movilización de PH y por otro lado hemos realizado un estudio prospectivo sobre estrategias para la optimización del proceso de aféresis.

2.3 Modalidad de trasplante alogénico según el donante

El donante ideal para la realización de un TPH es un donante HLA idéntico emparentado, joven, varón y sin comorbilidades. Sin embargo, esta opción no está siempre disponible y en muchas ocasiones hay que recurrir a donantes alternativos. En función de la patología de base y de las características basales del paciente puede ser más adecuado uno u otro tipo de donante. Así mismo, la disponibilidad de donante accesible también va a marcar la elección del mismo ya que en la mayoría de las patologías no se pueden asumir tiempos de demora prolongados por el riesgo que supone una posible recidiva de la enfermedad pretrasplante. A continuación, vamos a hacer una exposición de cuáles son los principales tipos de donantes de PH de los que podemos disponer.

2.3.1 Donante HLA idéntico emparentado

Se trata del donante ideal en muchos casos. Este donante lo podemos encontrar entre los hermanos del paciente. Antes de cualquier TPH alogénico es necesario realizar un tipaje HLA de alta resolución que incluya HLA A, B, C, DRB1 y DQB1. Se sabe que las diferencias existentes en el haplotipo entre donante y receptor se asocian con un mayor riesgo de padecer enfermedad injerto contra receptor (EICR).(25) Si bien esta complicación en muchos casos es grave y se asocia con

una elevada morbimortalidad, también es cierto que el hecho de tener discrepancias en HLA también se ha relacionado con una mayor actividad de injerto contra leucemia, lo cual es fundamental para conseguir la erradicación de la enfermedad.(26)

2.3.2 Donante no emparentado

En los casos en los que no es posible encontrar un donante familiar compatible con el paciente es necesaria la activación de la búsqueda de donante no emparentado (DNE) en REDMO. El tiempo medio para la localización de un donante compatible es de unos 38 días.(27) En los casos en los que hay disponibles varios DNE compatibles se tendrán en cuenta otras variables para decidir cuál es el donante más apropiado: Sexo, edad, compatibilidad ABO, etc.

2.3.3 Donante haploidéntico

Se trata de un donante que solo comparte un haplotipo compatible con el receptor. La posibilidad de encontrar un donante de estas características es mucho mayor que la de encontrar uno HLA idéntico, ya que no solo es posible encontrarlo en los hermanos del paciente, sino que también otros familiares como los padres pueden ser haploidénticos.

En esta modalidad de trasplante es importante tener en cuenta la aloreactividad KIR, ya que se ha asociado con efecto antitumoral, reducción del riesgo de EICR y de fallo de injerto.

2.3.4 Otras características importantes del donante: Edad, sexo, serología citomegalovirus (CMV), compatibilidad ABO y tamaño corporal.

La edad del donante tiene repercusión tanto en la facilidad para realizar la donación para el propio donante, como en el resultado del TPH. A mayor edad del donante menor probabilidad hay de realizar una buena movilización de PH. En cuanto a los resultados sobre el TPH, se ha visto que los TPH realizados de donantes más mayores se relacionan con una mayor toxicidad. La explicación a esto se ha dado basándose en que, a mayor edad, mayor exposición y sensibilización a antígenos externos.

Por estos motivos, el donante ideal es aquel de menos de 35-40 años.

Por otro lado, el sexo también es un factor determinante a la hora de elegir a un donante.(28) Los TPH realizados de donantes de sexo femenino, sobre todo si han estado embarazadas previamente, tienen una mayor probabilidad de sufrir EICR.

En cuanto a la serología CMV, los peores resultados se han visto en donantes seronegativos y pacientes seropositivos, ya que las células del donante no tienen capacidad de generar anticuerpos frente al virus latente, lo cual aumenta la probabilidad de reactivación del CMV.(29)

Respecto al grupo ABO, una incompatibilidad mayor no supone descartar al donante, sin embargo, sí que se asocia con una mayor morbilidad del procedimiento, por lo que, a igualdad de condiciones, siempre es preferible el TPH ABO compatible.

Por último, el tamaño corporal donante-receptor es otro factor a tener en cuenta. Un desequilibrio importante a favor del receptor (peso mucho más elevado que el donante) puede suponer no obtener un número suficiente de PH durante el proceso de obtención, sobre todo si esta debe de hacerse de médula ósea.

3. Dosis celular necesaria para el TPH procedente de PHSP

La cantidad de CD34+/Kg infundidas influye en los resultados del TPH, por lo que es fundamental disponer de una cifra adecuada de CD34+/Kg a infundir después de haber realizado el tratamiento de acondicionamiento. En el caso del trasplante autólogo se ha visto una relación lineal entre la dosis de CD34+

infundida y el injerto de plaquetas(30). Además, también existe correlación con el injerto de neutrófilos, de manera que dosis de CD34+ inferiores a $2 \times 10^6/\text{Kg}$ se correlacionan con un peor injerto(31)(32). Por otro lado, la infusión de un número demasiado alto de CD34+ puede actuar de manera perjudicial sobre los resultados del TPH. De esta manera, se han correlacionado altas dosis de CD3+ y de CD34+ en el TPH alogénico con incremento de la incidencia de EICR (33) y con disminución de la supervivencia global posterior al TPH (34).

Así pues, es fundamental la obtención mediante los procedimientos de movilización y aféresis de una dosis mínima de CD34+, así como no sobrepasar la dosis objetivo de CD34+ por los efectos adversos que esta puede tener sobre los resultados del TPH.(35)·(36)

La cifra mínima de CD34+ a infundir varía en función del tipo de trasplante:

- TPH autólogo simple: $2 \times 10^6/\text{Kg}$
- Doble TPH autólogo: $4 \times 10^6/\text{Kg}$
- TPH alogénico de donante emparentado HLA idéntico: $4 \times 10^6/\text{Kg}$ (37)
- TPH alogénico de DNE: $5 \times 10^6/\text{Kg}$ (esta cifra puede ser variable en función del centro donante y receptor).
- TPH alogénico haploidéntico: $5 \times 10^6/\text{Kg}$

4. Movilización de PHSP

4.1 G-CSF. Mecanismo de acción, principios activos y presentaciones

Debido a que habitualmente en la sangre periférica no hay progenitores hematopoyéticos, para poder realizar la obtención de PHSP es necesario en primer lugar la administración de un tratamiento de movilización. Con este lo que se pretende es que los PH, células CD34+, migren desde su nicho en la médula ósea hacia la sangre periférica para poder ser recolectados. Para ello, el fármaco más utilizado es el G-CSF.

El G-CSF es producido por nuestro organismo en los monocitos, macrófagos, células endoteliales, fibroblastos y en células estromales de la médula ósea. Se

produce como respuesta ante estímulos infecciosos como las proteínas de las paredes bacterianas y endotoxinas. Al producirse actúa sobre los receptores situados en células hematopoyéticas aumentando la producción principalmente de granulocitos, y también en neutrófilos maduros, activándolos, aumentando su citotoxicidad, movilizándolo sus vesículas secretoras y estimulando la liberación de gránulos.

El G-CSF puede ser producido de manera artificial mediante tecnología recombinante gracias a la introducción del gen de G-CSF en el ADN de la bacteria *Escherichia Coli*. Con esto se consigue obtener una proteína idéntica a la proteína humana original, con la única diferencia de una metionina terminal necesaria para su expresión por la bacteria.

Existen diferentes principios activos de agentes recombinantes (filgrastim, lenograstim), y presentaciones farmacéuticas como el Neupogen®, Nivestym® y Zarzio®, habiendo demostrado similar eficacia y seguridad.(38)(39) Además de utilizarse en los protocolos de movilización de PHSP, el G-CSF es ampliamente utilizado en el tratamiento y profilaxis de las neutropenias inducidas por quimioterapia.

Por otro lado, tenemos las formas pegiladas de filgrastim, pegfilgrastim (Neulasta®, Nyvepria®). Se trata de presentaciones que tienen un tiempo de acción más prolongado que el filgrastim con el mismo mecanismo de acción. Estas formas se pueden utilizar para el tratamiento de la neutropenia inducida por quimioterapia, permitiendo una única administración por ciclo, lo cual se traduce en un mejor cumplimiento terapéutico, aunque con un coste mayor.(40)(41) Estas últimas formas no se utilizan habitualmente para la movilización de PHSP.

4.2 Dosis de G-CSF

En la actualidad existen pocos estudios sobre las dosis a utilizar de estos fármacos para conseguir una adecuada movilización de PHSP. La dosis recomendada de filgrastim es de 10 µg/Kg/día durante 4-6 días en pacientes y

donantes sanos.(38)(42) Con las dosis aprobadas hay estudios realizados con tasas en torno al 40% de fallo de movilización (43)(44) así como cumplimiento del objetivo de CD34+ a alcanzar en un solo día del 53% (45). En estos casos es necesario realizar un número mayor de procedimientos de aféresis, lo cuál implica un mayor consumo de recursos. Además, la infusión en el paciente de un recuento reducido de CD34+/Kg se ha relacionado con consecuencias negativas en el TPH, con peor injerto y un incremento en los requerimientos transfusionales y de antibióticos.(36)(43)

En varios estudios se ha comprobado una relación dosis-respuesta del G-CSF en donantes sanos(46)(47)(48) y en pacientes,(49)(50)(51)(52) sin embargo, no existe un consenso sobre la utilidad de utilizar dosis elevadas de G-CSF en individuos malos movilizadores. Debido a esta discrepancia entre los trabajos publicados y la práctica clínica habitual, sería interesante recabar más evidencia para clarificar si dosis elevadas de G-CSF pueden ser beneficiosas para la movilización de PHSP en ciertos individuos.

Existen también estudios sobre la utilidad de utilizar dosis menores de G-CSF. Algunos de estos han concluido que el utilizar dosis reducidas de G-CSF se asocia con peores resultados en la movilización de PHSP. En uno de estos estudios las dosis reducidas (3-5 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{day}$) se correlacionaron con obtención de recuentos inferiores de CD34+ en sangre periférica.(53) En otro estudio multicéntrico se comparó estrategias de movilización basadas en quimioterapia junto con dosis estándar de filgrastim (10 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$) y con dosis inferiores (5 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$), siendo los resultados mejores con el uso de dosis estándar (54).

En otro estudio se obtuvo un injerto peor de plaquetas en los resultados posteriores del trasplante en individuos movilizados con dosis reducidas de G-CSF.(55) En contraste, en otro de los estudios realizados con dosis reducidas (5 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$), se obtuvieron resultados similares en la movilización de CD34+ en comparación con dosis estándar. (56)

4.3 Efectos adversos G-CSF

La movilización de PHSP con G-CSF es un procedimiento que se lleva haciendo desde hace años, y que ha demostrado ser seguro y eficaz. Sin embargo. Todas las presentaciones de G-CSF están asociadas a una serie de efectos secundarios. Dado que en muchas ocasiones el contexto de administración de G-CSF es después de la quimioterapia, en ocasiones es difícil discriminar si los efectos adversos producidos se deben al G-CSF o a la propia quimioterapia. En general los efectos son leves. El más frecuente es el dolor óseo que con frecuencia suele aparecer a nivel lumbar, en la pelvis, costillas, esternón o huesos largos. Habitualmente este dolor se puede controlar con analgésicos no opiáceos como paracetamol. Otros efectos frecuentes son las náuseas, vómitos, fiebre y diarrea. Debido a su mecanismo de acción, también produce leucocitosis, hiperuricemia, aumento de la lactato deshidrogenasa y de la fosfatasa alcalina.

Aunque infrecuentes, se han descrito también asociados efectos adversos graves como reacciones anafilácticas, rotura esplénica, síndrome de liberación extracapilar y hemorragias pulmonares.(57)(58)(59)(60)

4.4 Movilización con G-CSF y quimioterapia

La posibilidad de realizar la movilización de PHSP con filgrastim y quimioterapia también ha sido estudiada. En un ensayo clínico aleatorizado fase III en pacientes con MM candidatos a TPH en tándem, se compararon dosis de G-CSF 10 µg/Kg/día ± citarabina 0,4 mg/m²/12 horas 2 días. Los resultados fueron favorables en cuanto a obtención de CD34+/Kg para el grupo con quimioterapia (61). Por otro lado, en otro estudio realizado también en pacientes con MM, en el que se comparó G-CSF 8 µg/Kg/día + citarabina 0,4 mg/m²/12 vs G-CSF 10 µg/Kg/día, se obtuvieron mejores resultados en cuanto a los recuentos de CD34+/Kg después de la movilización y aféresis en el grupo con quimioterapia, pero posteriormente se comprobó que este resultado no tenía repercusión posterior sobre el injerto de neutrófilos o plaquetas.(62) En cualquier caso, hay que tener en cuenta que añadir quimioterapia a las estrategias de movilización

supone añadir una mayor toxicidad que no siempre es beneficiosa en términos de tratamiento. Por ello surgió la necesidad de nuevos tratamientos de movilización, como el plerixafor.

4.5 Plerixafor

Se trata de un fármaco que presenta un mecanismo de acción diferente al G-CSF. Actúa como antagonista selectivo reversible del receptor de quimiocina CXCR4 y bloquea la unión de su ligando afín, el factor derivado de células estromales 1 α (SDF-1 α), también conocido como CXCL12. Esto da lugar a la aparición tanto de células maduras y células pluripotentes en la circulación sistémica. (63)

El plerixafor, asociado a G-CSF, es capaz de disminuir las tasas de fallo de movilización en pacientes, así como disminuir el número de días de aféresis necesarios para completar el objetivo de CD34+/Kg(64)(65)(66)(67). En los estudios realizados se ha comprobado que su uso se debe de hacer de manera preventiva en el día +4 o +5 de la movilización en función de las CD34+/ μ L en sangre periférica del paciente antes del inicio de la aféresis(68), de manera que con un cálculo de CD34+ preaféresis <10 CD34+/ μ L estaría indicado utilizarlo(69). Sin embargo, no hay consenso sobre si se debería administrar con cifras intermediasde 10-20 CD34+/ μ L preaféreis.(42)

Hay que tener en cuenta que actualmente el plerixafor es un fármaco de elevado coste económico y que además hay que asociarlo con G-CSF. Por tanto, lo ideal sería contar con estrategias de movilización que optimicen la dosis de G-CSF en función de las características de los pacientes y donantes a movilizar.

Existen factores predictores de mala movilización(70) como edad avanzada (\geq 60 años), estadios avanzados de la enfermedad, tratamiento previo con radioterapia o haber recibido quimioterapia con fludarabina (71), melfalán, fármacos alquilantes (30) o \geq 4 ciclos de lenalidomida.(73)(42) Actualmente no hay recomendaciones definidas sobre si estos pacientes se podrían beneficiar de dosis más altas de G-CSF.(42)

Por otro lado, el plerixafor se ha asociado con algunos efectos adversos. Los más frecuentes son leves, como diarrea, náuseas y reacciones locales en el lugar de inyección. Sin embargo, también se han descrito casos que, aunque infrecuentes son graves, como reacciones anafilácticas e infarto agudo de miocardio.

5. Aféresis de componentes sanguíneos

5.1 Conceptos generales y mecanismos de funcionamiento

El concepto de aféresis se define como una extracción selectiva de componentes sanguíneos que se puede realizar con una finalidad terapéutica o de recolección para su posterior utilización autóloga o alogénica. Para la separación de los componentes sanguíneos existen diferentes métodos: Filtración, adhesión y centrifugación. Este último es el que se emplea en los separadores celulares de aféresis. Mediante la centrifugación es posible separar los diferentes componentes de la sangre en función de su densidad, de menor a mayor densidad: Plasma, plaquetas, linfocitos, monocitos, granulocitos y hematíes.

Para realizar un procedimiento de aféresis es fundamental conocer cuál es la volemia del individuo al que se le va a realizar. Esta se define como el volumen total de sangre circulante, que suele ser alrededor de un 8% del peso corporal. La volemia puede variar mucho de un individuo a otro en función del peso, el sexo y la talla. La fórmula más ampliamente utilizada para su cálculo es la de Nadler.(74) Hay que tener en cuenta que no es una fórmula válida para niños y que es diferente para hombres y mujeres:

Volemia hombres = [(Talla en metros)³ x 0,3669] + (0,03219 x peso en Kg) + 0,6041

Volemia mujeres = [(Talla en metros)³ x 0,3561] + (0,03308 x peso en Kg) + 0,1833

Una vez que conocemos la volemia de un individuo podremos calcular:

Volumen plasmático = Volemia x (1 – hematocrito)

Volumen eritrocitario = Volemia x hematocrito

Por otro lado, para realizar cualquier procedimiento de aféresis es necesario disponer de accesos venosos, los cuáles pueden ser:

- VVP: Son de elección sobre todo en donantes sanos. El que se puedan utilizar o no va a depender de la calidad venosa del individuo. Por desgracia no siempre es posible disponer de ellos y hay que recurrir a la implantación de catéteres centrales. Siempre será necesaria una valoración previa por un equipo de enfermería especializado que pueda definir si el individuo es apto o no para la utilización de acceso vascular periférico. En la mayoría de los casos estos accesos se retiran al finalizar el proceso de aféresis.
- CVC: Pueden ser de localización yugular, subclavia o femoral (estos últimos son de corta duración). La manipulación de estos debe ser estéril.
- Fístula arterio-venosa: Puede ser autóloga o protésica. Este tipo de acceso venoso es habitual en pacientes que además de procedimientos de aféresis están en protocolos de hemodiálisis. No es habitual en pacientes hematológicos.

5.2 Principales aplicaciones de la aféresis

Como hemos explicado, mediante la aféresis se pueden separar y extraer diferentes componentes sanguíneos con diferentes objetivos:

- 5.2.1 Donación: Consiste en la extracción, de plaquetas, plasma o hematíes a un donante para su posterior uso como transfusión para un paciente.

5.2.2 Aféresis terapéuticas: Consiste en la extracción o recambio para su posterior eliminación de componentes celulares que el paciente tiene en exceso o bien el recambio de componentes patológicos por fluidos de reposición. Las más importantes son:

5.2.2.1 Recambio plasmático: Extracción de al menos un volumen plasmático y sustitución por una solución de reposición que suele ser albúmina 5% o plasma procedente de donación (este último se utiliza en casos de púrpura trombocitopénica trombótica).

5.2.2.2 Leucoaféresis: Extracción para su posterior eliminación del exceso de leucocitos. Se utiliza en casos de hiperleucocitosis extrema en LMA (leucocitos $> 100 \times 10^9/L$) y LLA (leucocitos $> 400 \times 10^9/L$)

5.2.2.3 Recambio eritrocitario: Consiste en la sustitución de hematíes patológicos por hematíes sanos procedentes de donación. Sus indicaciones son principalmente en anemia drepanocítica, malaria e intoxicaciones (derivados del petróleo, arsénico y anilinas).

5.2.2.4 Eritroaféresis: Extracción de exceso de glóbulos rojos. Sus indicaciones son principalmente las poliglobulias y casos de sobrecarga férrica.

5.2.2.5 Trombocitaféresis: Consiste en la extracción para su posterior eliminación del exceso de plaquetas. Su utilización es infrecuente y se da en casos de complicaciones isquémicas severas que no responden a tratamiento médico en contexto de Neoplasias Mieloproliferativas Crónicas.

5.2.3 Aféresis de PHSP: Consiste en hacer pasar el volumen sanguíneo de un individuo a través de un separador celular para que este consiga separar los PH del resto de componentes celulares para así poder ser extraídos y utilizados para un posterior TPH autólogo o alogénico.

5.3 Separadores celulares utilizados en aféresis

Todos los separadores celulares tienen en común ser capaces de separar los componentes sanguíneos gracias a diferentes mecanismos. Como hemos dicho en el apartado 5.1, el mecanismo principal es el de centrifugación. Los elementos principales del separador celular son:

6. Centrífuga: Es el elemento principal y más complejo de un separador celular. Esta centrífuga consta de un recipiente que puede ser de tipo campana, cinturón o doble compartimento. Según el producto sanguíneo que deseemos obtener se podrá usar una fuerza de centrifugación de diferente intensidad, la cual cambiará la disposición de los componentes sanguíneos. Esto lo podemos ajustar mediante el factor de concentración del separador.
7. Bombas peristálticas: Habitualmente estas se utilizan como contador del líquido que bombean y pueden ser de flujo continuo o discontinuo.
8. Válvulas: Se encargan de dirigir los componentes a lo largo del circuito.
9. Sensores ópticos: Determinan la posición de las capas. Algunos incluso pueden desactivar o modificar el sistema en caso de detección de plasmas anormales.
10. Sensores de presión: De salida del paciente (presión negativa), de retorno al paciente (presión positiva) y de presión del propio sistema.
11. Detectores de fugas y de aire.
12. Atrapaburbujas.
13. Filtros: Pueden ser de agregados plaquetarios, de microbios o leucoreductores.

En todos ellos es necesaria la infusión de anticoagulante al individuo al que se le está realizando la aféresis para evitar que se coagule el sistema. El anticoagulante más utilizado es la combinación de citrato, dextrosa y adenina fórmula A (ACD-A). Se trata de un anticoagulante que actúa quelando cationes divalentes (calcio y magnesio), bloqueando así la activación de los factores de la

coagulación. Su efecto es a nivel extracorpóreo sin producir anticoagulación en el propio individuo.

Los efectos adversos derivados de su uso se deben a que al contener citrato su metabolismo produce bicarbonato en el hígado, lo cual puede dar lugar a alcalosis metabólica y a que, por otro lado, al ser quelante del calcio y magnesio produce hipocalcemia e hipomagnesemia.

La hipocalcemia es la responsable de los efectos adversos más frecuentes derivados de los procedimientos de aféresis: parestesias periorales y en dedos, náuseas, vómitos, calambres y espasmos musculares y en casos graves arritmias. Para evitarlos, en muchos centros lo que se hace es infundir calcio y magnesio durante el procedimiento de aféresis.

Existen diferentes modelos de separadores celulares. Algunos dispositivos utilizados hace años como Cobe Spectra y Haemonetics MCS+ actualmente están prácticamente es desuso y han dejado paso a dispositivos más sofisticados como Amicus (Fresenius-Kabi®) y Spectra Optia (Terumo BCT®). Tanto Amicus como Spectra Optia funcionan mediante un sistema de centrifugación para separar en estratos en función de su densidad las diferentes células y moléculas que configuran la sangre total. Sin embargo, el mecanismo no es exactamente el mismo.

En Spectra Optia existe un sistema de cinturón: Se trata de un recipiente flexible con una entrada y varias salidas por las que van saliendo los diferentes componentes sanguíneos y a la vez las células son sedimentadas contra la pared externa del cinturón.

En Amicus hay un sistema de doble compartimento: En el primer compartimento, se separan los componentes celulares mediante combinación de la centrifugación y la aspiración contra centrifugación. A este sistema se le conoce como elutriación: Consiste en provocar el movimiento de un componente en una dirección diferente a la de la centrifugación.

Actualmente el separador más utilizado para las aféresis de CD34+ es Spectra Optia debido a su fácil manejo, buenos resultados y permitir trabajos a flujos

sanguíneos elevados, por lo que permite procesar un número elevado de volemias.

Existen estudios en los que se ha comparado el uso de Cobe Spectra y Spectra Optia, con el objetivo de analizar si Spectra Optia era igual o más efectiva que Cobe Spectra. En algunos de ellos se demostró que los resultados en la eficiencia de recolección de CD34+ eran similares en ambos dispositivos, (75)(76) así como la tasa de efectos adversos.(77) En otros estudios realizados se ha demostrado que Spectra Optia es incluso mejor que Cobe Spectra, con mejores resultados de eficiencia y con una menor contaminación del producto. (78)(79)(80)

13.1 Fórmulas de eficiencia: CE1 y CE2

En aféresis hay diferentes fórmulas que son de utilidad para llevar a cabo un procesamiento correcto del volumen sanguíneo y obtener el producto deseado.(74)

Además de la fórmula de Nadler para el cálculo de la volemia que hemos descrito en el apartado 5.1, existen otras fórmulas importantes en aféresis de PHSP.

Una de las más importantes es la de la eficiencia de recolección. El concepto es el número de células recogidas sobre el total de células procesadas por el separador celular. Esta fórmula se puede utilizar para PH CD34+ pero también para la recolección de otras células, como la aféresis de plaquetas. Existen dos variantes de la fórmula de eficiencia, CE1 y CE2:

$$CE1 = [(CD34+ \text{ totales en el producto}) / (((CD34+ \text{ preaféresis} + CD34+ \text{ postaféresis}) / 2) \times \text{volumen sanguíneo procesado})] \times 100.$$

$$CE2 = [(CD34+ \text{ totales en el producto}) / (CD34+ \text{ preaféresis} \times \text{volumen sanguíneo procesado})] \times 100.$$

Como podemos apreciar en las fórmulas, la diferencia fundamental entre ambas es que para calcular la CE1 es necesario conocer la determinación de CD34+ postaféresis circulantes en el individuo. Este parámetro no siempre se determina en la mayoría de los hospitales, por lo que en general resulta más práctico conocer el valor de CE2.

13.2 Fórmula de eficiencia para el cálculo de volumen sanguíneo a procesar

Al realizar un procedimiento de aféresis para la obtención de un objetivo de CD34+/Kg, una de las preguntas que debemos plantearnos es que VST o cuantas volemias necesitamos procesar en el separador celular.

En muchos centros se procesa un estándar fijo que suele estar alrededor de las 3 volemias.(37) Sin embargo, procesando un número fijo de volemias en todos los individuos que se realizan aféresis sin individualizar puede suponer un error en cuanto a no recoger el número suficiente de CD34+/Kg necesarias para el TPH. De aquí surge la idea de intentar individualizar que volumen o que número de volemias es necesario procesar en cada individuo.

Una manera de calcular el VST que es necesario procesar es conocer la eficiencia.(81)(82) Se trata de una fórmula de la cual podemos despejar el valor de "VST procesado" una vez que conocemos el valor de la eficiencia, de tal forma que podremos saber que volumen de sangre del paciente es necesario procesar para alcanzar el objetivo deseado CD34+/Kg:

$$\text{VST a procesar} = (\text{CD34+ totales en el producto} \times \text{volumen del producto}) / (\text{CD34+ preaféresis} \times \text{CE2}).$$

Las últimas recomendaciones establecen las volemias necesarias a procesar en 3, pero no está claro si se podrían procesar un menor número de volemias en pacientes o donantes sanos buenos movilizadores y si sería útil o no procesar

más volemias en pacientes o donantes sanos malos movilizadores para alcanzar el objetivo de CD34+/Kg (42).

13.3 Factores que pueden afectar a la eficiencia

Como hemos dicho en el apartado anterior, conocer el valor de la CE2 puede ser muy útil para poder calcular que volumen de sangre hay que procesar en el separador celular. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la eficiencia de los procedimientos de aféresis no es la misma en todos los pacientes y donantes, sino que hay factores que pueden afectarla. Si utilizáramos el mismo valor de CE2 para todos los procedimientos, estaríamos infraestimando el volumen que hay que procesar en aquellos individuos con un valor de CE2 disminuido y supra estimándolo en aquellos con una CE2 elevada. Por este motivo, es fundamental conocer que CE2 tiene cada individuo. Para ello es fundamental disponer de un registro adecuado de procedimientos que permita saber el valor de la CE2 de los individuos, para así poder analizarla y poder saber qué factores pueden influir en la misma. Disponer de bases de datos sobre los valores de los procedimientos de aféresis realizados en un servicio es de vital importancia para poder optimizar los procedimientos sucesivos.(83)

En varios estudios realizados se han analizado factores que pueden influir en el valor de la CE:

- Edad: A mayor edad, menor valor de la CE.(84)
- Donante sano o paciente: Hay estudios en los que se han encontrado valores superiores de CE en donantes sanos respecto a pacientes.(85) En contraposición en otros ha pasado justo lo contrario, encontrando valores inferiores de CE en donantes sanos,(82) mientras que en otros no se han encontrado diferencias.(86)
- Utilización de CVC: Se ha correlacionado el ser portador de CVC con un menor valor de la CE respecto a la utilización de VVP.(84) En esta correlación debemos de tener en cuenta el posible sesgo que implica el hecho de que la mayor parte de individuos que se realizan aféresis con

CVC son pacientes, mientras que los donantes sanos en su mayoría se realizan la aféresis mediante VVP.

- Fármacos utilizados en la movilización: En un estudio realizado se comparó el valor de CE entre aféresis de individuos movilizados solo con G-CSF e individuos movilizados con G-CSF y plerixafor. La CE fue superior en individuos movilizados solo con G-CSF.(87) En otro estudio se comprobó que en los individuos movilizados con plerixafor se conseguían valores de CE superiores si la aféresis se realizaba el mismo día de la administración de plerixafor respecto a si se realizaba al día siguiente. (88)
- Recuento de leucocitos preaféresis: Se ha correlacionado una cifra elevada de leucocitos preaféresis con una menor CE.(89)(90)
- VST procesado: El procesamiento de un VST elevado se ha correlacionado con valores menores de CE.(89)
- Hematocrito: Valores de hematocritos elevados se han relacionado con valores más reducidos de CE.(90)
- Albúmina: También se ha encontrado relación entre valores elevados de albúmina y disminución de la CE.(90)

13.4 Estudios realizados basados en fórmulas de eficiencia

Hay diferentes estudios que se han realizado para mejorar las estrategias de aféresis de PHSP utilizando la fórmula CE como herramienta para calcular las volemias necesarias a procesar y disminuir así el número de días de aféresis necesarios para alcanzar el objetivo CD34+/Kg, disminuir el tiempo necesario de aféresis para pacientes con buena movilización y disminuir el número de dosis necesarias a utilizar de filgrastim y plerixafor.

Algunos de estos estudios se han realizado en donantes sanos: En el estudio llevado a cabo por Godbey et al. (91) se calcularon las CE₂ de 98 donantes sanos y se utilizó el percentil 25 de esta para calcular el volumen a procesar de manera prospectiva. Con los cálculos realizados se consiguió alcanzar el objetivo deseado de CD34+/Kg en un 93% de los casos. Además, se comparó el uso de los separadores celulares COBE Spectra y Spectra Optia, siendo los

resultados favorables a Spectra Optia. Por otro lado, (92) Almeida-Neto et al. utilizaron un valor de CE del 30% para la implementación de la fórmula en 307 donantes sanos, pero no llevaron a cabo un cálculo retrospectivo de la misma. Como separador celular utilizaron COBE Spectra y concluyeron que un cálculo de la CE histórico en cada servicio puede ayudar a optimizar la recolección de CD34+.

Otros estudios se han realizado en pacientes y donantes sanos como el de Laberfinger et al., en el que se hizo el análisis retrospectivo de las CE de 107 aféresis (85) obteniéndose valores de CE de 52% y 57% para pacientes y donantes sanos respectivamente que posteriormente fueron implementados para el cálculo del VST a procesar. Gracias a la implementación de estos cálculos se consiguió disminuir el número de días necesarios de aféresis, el tiempo de procesamiento y la tasa de infusión de anticoagulante. El estudio de Ono Y et al.(86) fue realizado también en pacientes y donantes sanos. Se calcularon las CE de manera retrospectiva y se utilizaron los percentiles 10 y 50 para elaborar un modelo predictivo. Con el percentil 90% se acertó en el modelo predictivo en el 100% de los casos.

En los estudios mencionados se utilizaron valores de CE calculados de manera retrospectiva, sin embargo, no individualizaron los valores de CE en función del individuo en el que se fuera a realizar la aféresis.

En la tabla1 exponemos un resumen de estos estudios realizados con las N que se utilizaron y los separadores celulares empleados.

Tabla 1. Estudios con utilización de fórmulas de eficiencia para cálculo de volumen a procesar en aféresis.

Estudio	Individuos analizados	Cálculo retrospectivo CE: Si/No	N para el cálculo retrospectivo CE	Valor de CE2 utilizado (percentil)	N de individuos en los que se aplicó la fórmula prospectiva	Separador celular utilizado
Godbey et al.	Donantes sanos	Si	98	40% (25)	88	COBE Spectra y Spectra Optia
Almeida-Neto et al.	Donantes sanos	No	NA	30%	307	COBE Spectra
Laberfinger et al.	Pacientes y donantes sanos	Si	107	52% pacientes, 57% donantes sanos	62	Spectra Optia
Ono Y et al	Pacientes y donantes sanos	Si	146	33,4% (10) y 52,5% (50)	65	COBE Spectra y Spectra Optia

Hipótesis

1. Las dosis altas de G-CSF (superiores a 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$) administradas en individuos (pacientes o donantes sanos) para la movilización de PHSP, no incrementan la cantidad de células CD34+ movilizadas desde la médula ósea a sangre periférica.
2. Mediante la fórmula de eficiencia CE2 es posible calcular las volemias a procesar en los procedimientos de aféresis de PHSP.
3. Es posible elaborar una fórmula de eficiencia para la aféresis de PHSP individualizada según diferentes características de los pacientes y donantes sanos que permita predecir las volemias necesarias a procesar.
4. Mediante la implementación de la fórmula de volemias a procesar es posible optimizar la aféresis de PHSP.

Objetivos

El objetivo principal de esta tesis doctoral es elaborar estrategias de optimización para la movilización y aféresis de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica. Para ello establecemos los siguientes subobjetivos:

1. Comparar la cantidad de células CD34+ movilizadas desde médula ósea a sangre periférica en donantes que reciben dosis bajas y dosis altas de G-CSF.
2. Elaborar una fórmula basada en el conocimiento de la eficiencia de aféresis CE2 que permita calcular cuantas volemias es necesario procesar en un individuo para alcanzar el objetivo de CD34+/Kg.
3. Comprobar que la fórmula elaborada tiene la capacidad de predecir de manera adecuada las células CD34+ que se van a obtener procesando un determinado volumen sanguíneo.
4. Evaluar el resultado de implementación de esta fórmula y sus consecuencias en la práctica clínica habitual.

Material, métodos y resultados

1. Comparison between standard and high dose of G-CSF for mobilization of hematopoietic progenitors cells in patients and healthy donors.

Resumen del artículo:

Actualmente la dosis estándar recomendada de G-CSF para la movilización de PHSP es de 10 µg/kg/día. En nuestro trabajo, el objetivo fue analizar si determinados pacientes o donantes sanos podrían beneficiarse de dosis altas de G-CSF. Para ello realizamos un análisis multicéntrico retrospectivo de los procedimientos de movilización de PHSP en pacientes y donantes sanos, comparando individuos que recibieron dosis estándar de G-CSF (10 µg/Kg/día durante 4 días en pacientes y donantes sanos) y los que recibieron dosis altas (24 µg/Kg/día durante 4 días en pacientes y 16 µg/Kg/día durante 4 días en donantes sanos).

En el estudio se incluyeron en total 496 individuos (201 dosis estándar y 295 dosis alta). No encontramos diferencias significativas en la mediana del número de células CD34+ movilizadas/mL, ni entre donantes sanos (77 100 vs 75 500 respectivamente, $p = 0,895$), ni en pacientes (34 270 vs 33 704 respectivamente, $p = 0,584$) entre dosis estándar y dosis altas respectivamente. Además, también realizamos un subanálisis entre aquellos con la misma patología subyacente, sin encontrar tampoco diferencias entre la dosis estándar y las dosis altas. Por otro lado, las dosis altas de G-CSF no se asociaron con una incidencia menos frecuente de movilizadores deficientes (<20 000 células CD34+/ml) ni en donantes sanos (1 [1,3 %] frente a 0; $p = 0,218$) ni en pacientes (30 [24,4 %] vs 32 [18,1%]; $p = 0,165$). El análisis multivariado mostró que la edad, el sexo y la dosis de G-CSF no influyeron en la mediana del número de células CD34+ movilizadas/mL en donantes sanos o pacientes. Sin embargo, la patología subyacente entre los pacientes influyó significativamente en la movilización de células CD34+. En donantes sanos, el hemograma mostró un recuento de leucocitos y plaquetas significativamente más alto con dosis altas de G-CSF,

mientras que en los pacientes solo se encontró un recuento de plaquetas más alto.



Comparison Between Standard and High Dose of G-CSF for Mobilization of Hematopoietic Progenitors Cells in Patients and Healthy Donors

Irene García-García^{a,b,*}, Joan Cid^a, Gloria Carbassé^a, Javier López-Jiménez^b, Gemma Moreno^b, Miquel Lozano^a

^a Apheresis & Cellular Therapy Unit, Department of Hemotherapy and Hemostasis, ICMHO, IDIBAPS, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain
^b Department of Hematology and Hemotherapy, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Available online 18 June 2022

Keywords:

Mobilization
 Hematopoietic Progenitors
 G-CSF
 High dose

ABSTRACT

A standard dose of 10 µg/kg/day granulocyte colony stimulating factors (G-CSF) is currently recommended for hematopoietic progenitor cells (HPCs) mobilization. Our aim was to analyze whether certain patients or healthy donors could benefit from high dose of G-CSF. We performed a retrospective multicenter analysis of HPCs mobilization procedures (2015–2020) in patients and healthy donors. Those who received standard dose of G-CSF (10 µg/Kg/day for 4 days to patients and healthy donors) and those that received higher dose (24 µg/Kg/day for 4 days to patients and 16 µg/Kg/day for 4 days to healthy donors) were compared. 496 individuals were included (201 standard dose and 295 higher dose). Between standard or higher dose, we did not find significant differences in median number of mobilized CD34+ cells/mL, neither among healthy donors (77 100 vs 75 500 respectively, $P = .895$), nor in patients (34 270 vs 33 704 respectively, $P = .584$). Additionally, among those with the same underlying pathology the comparison between standard and higher dose did not showed differences. High G-CSF dose was not associated with a less frequent incidence of poor mobilizers (<20 000 CD34+ cells/mL) neither in healthy donors (1 [1.3%] vs 0; $P = .218$) nor patients (30 [24.4%] vs 32 [18.1%]; $P = .165$). Multivariate analysis showed that age, gender, and G-CSF dose did not influence median number of mobilized CD34+ cells/mL in healthy donors or patients. However, the underlying pathology among patients significantly influenced the CD34+ cells mobilization. In healthy donors, cellular blood count showed significantly higher leukocytes and platelets count with G-CSF high-dose, while in patients just a higher platelets count was found. To conclude, high dose of G-CSF compared to standard dose did not show significant benefit in terms of mobilization of CD34+ cells in healthy donors or in patients, also without a decrease in the incidence of poor mobilizers.

© 2022 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) are the treatment of choice in several hematological diseases. An essential step is to obtain hematopoietic progenitor cells (HPCs), by direct extraction with repeated punctures in the pelvic bone or by peripheral blood collection (PBC) with apheresis devices. PBC procedure precises a previous HPCs mobilization from the bone marrow using a cytokine, chemotherapy or both drugs. Currently, PBC is the most widely used technique due to its greater availability, safety, and good results in HSCT [1–4].

The granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) is the main cytokine being used for HPCs mobilization. Different active principles (eg, filgrastim or lenograstim) have shown similar efficacy and safety [5,6]. Currently, a standard dose of 10 µg/Kg/day of G-CSF for 4–6 days is recommended in healthy donors and patients [7,8]. However, the use of standard dose have shown an HPCs mobilization failure rate up to 30% [9,10].

A dose-response relationship with G-CSF has been demonstrated in healthy donors [11–13] and in patients [14–17]. However, there is not a consensus about its usefulness of higher dose in subjects with risk factors for poor mobilization [7].

Because of this discrepancy between published manuscripts and current practice, it would be interesting to get more evidence to clarify if high doses of G-CSF could be beneficial. The aim of our study was to figure out if certain patients or healthy donors could benefit from high dose of G-CSF (> 10 µg/Kg/day) instead of standard dose, improving the efficacy of HPCs mobilization with a

* Correspondence to: Irene García-García, MD, Unitat d'Afèresi i Teràpia Cel·lular, Servei d'Hemoteràpia i Hemostàsia, ICMHO, Hospital Clínic, C. de Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain.

E-mail address: irene.garciag05@gmail.com (I. García-García).

Table 1
Characteristics of the healthy donors and patients from both groups, standard and high dose of G-CSF.

		Standard dose ^a	High dose ^b	P value
Healthy donors	Male: Female	1:1	1:1	.84
	Age (years), Median (IQR).	38 (31 – 50)	47 (37 – 57)	.002
	Weight (kilograms), Median (IQR).	76 (65 – 87)	75 (64 – 86)	.46
Patients	Male: Female	1:1	1:1	.92
	Age (years), Median (IQR).	56 (45 – 66)	57 (49 – 62)	.55
	Weight (kilograms), Median (IQR).	72 (60 – 83)	73 (63 – 83)	.78
	Underlying pathology.			
	N (%)			
	Multiple Myeloma	72 (35.8)	108 (36.6)	.05
	Non-Hodgkin Lymphoma	27 (13.4)	50 (16.9)	
	Hodgkin Lymphoma	9 (4.5)	3 (1)	
	Autoimmune disease	3 (1.5)	11 (3.7)	
	Solid tumor	4 (2)	2 (0.7)	
	Crohn disease	1 (0.5)	3 (1)	
Others	7 (3.5)	0 (0)		

^a Standard dose: 10 µg/Kg/day in healthy donors and patients;

^b High dose: 16 µg/Kg/day in healthy donors and 24 µg/Kg/day in patients

higher CD34+cell/mL value and lower poor mobilizer incidence. Other variables related with HPCs mobilization outcomes and the effect of different dose of G-CSF on complete blood counts (CBC) were also assessed.

Materials and Methods

We performed a retrospective multicenter registry, joining data from two tertiary hospitals with different HPCs mobilization protocols to compare the results obtained: One center uses high doses and the other uses standard doses. HPCs mobilization procedures with G-CSF between 2015–2020 from both tertiary hospitals were identified. Different G-CSF dose was used depending on the protocol of each hospital, therefore, the assignment of individuals to receive standard dose or high dose depended on each hospital. Hospital Ramón y Cajal (Madrid, Spain) use a standard dose of 10 µg/Kg/day for both patients and healthy donors. Hospital Clínic (Barcelona, Spain), center with a recognized experience and apheresis collections volume [18], uses higher dose of G-CSF: 24 µg/Kg/day for patients and 16 µg/Kg/day for healthy donors. All subjects received filgrastim as G-CSF drug, with a total daily dose of G-CSF administered in 2 equal doses twice a day and rounded to suit the 300 µg and 480 µg pharmaceutical presentations. G-CSF dose were based on actual body weight. Duration of exposure to G-CSF was 4 days in both hospitals. Peripheral blood CD34+ cell count was performed on the morning of 5th day (08:00 hour AM) after starting G-CSF. Adequate mobilization was considered when CD34+cell/mL value was higher than 20 000 cells/mL. A value lower than 20 000 cells/mL at 5th day was considered poor mobilization [19–23]. CD34+ cells were quantified in both hospitals using single-platform fluorescence analysis (International Society for Hematotherapy and Graft Engineering protocol) [24]. Those patients that received any other drug other than G-CSF, including chemotherapy or plerixafor, as part of the mobilization scheme were excluded from the study. Adverse events associated with G-CSF were defined according to Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 5.0 [25]. The incidence of adverse events grade 3 or higher was collected in a questionnaire made to all patients on the fifth day of G-CSF administration. Prior approval was requested from the Ethics Committee for Drug Research of both participating hospitals (Hospital Ramón y Cajal and Hospital Clínic). Both committees gave a favorable response to carry out the study. All the individuals mobilized in both hospitals signed an informed consent before mobilization and apheresis protocol, with standard G-CSF dose in Hospital Ramon y Cajal and high G-CSF dose in Hospital Clínic. Informed consent for their data analysis in our study was not required by the ethics committees in both participating hospitals, due to retrospective nature of our study.

Statistical Analysis

Categorical variables were reported as frequency and percentage. Continuous quantitative variables followed a non-normal distribution determined by the Kolmogorov-Smirnov test, and thus they were reported as median and interquartile range (IQR). The association between variables was analyzed using statistical tests according to the type and number of variables, and the sample size. For the correlations between categorical variables, we used the Chi square test. The analytical counts of CD34+ cells/mL followed a non-normal distribution in all the subgroups analyzed, so the non-parametric Mann-Whitney U test was used to analyze the association between 1 quantitative variable and 1 qualitative and Kruskal-Wallis test in case of >2 quantitative variables. Multiple linear regression analysis was used to establish the relationship between variables. Statistical significance was set at $P < .05$. Statistical analysis was performed with software (IBM SPSS Statistics 25, IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

Results

We included 496 consecutive mobilized individuals (healthy donors and patients) in the study: 201 with standard G-CSF dose and 295 with higher G-CSF dose. Individuals' demographic and clinical characteristics are listed in Table 1. Comparison of background variables between those with standard and high dose did not found differences, with the exception of healthy donors group that received high dose, who were significantly older (38 years [IQR 31–50] vs 47 years [IQ 37 – 57]; $P = .002$).

The comparison of mobilized CD34+ cells/mL values between standard and high dose groups did not find significant differences neither in healthy donors (77 100 vs 75 500 respectively; $P = .895$), nor in patients (34 270 vs 33 704 respectively; $P = .584$).

A multivariable linear analysis was performed to understand the influence of different variables previously hypothesized as poor mobilization risk factors [22,26,27] and G-CSF dose on CD34+ cell values (Table 2). In both, healthy donors and patients, the variables age, gender, and G-CSF dose did not influence the CD34+ cells mobilization. Among patients, underlying pathology significantly influenced CD34+ cells mobilization. The comparison of CD34+ cells values between standard and high doses among those with the same underlying pathology are shown in Table 3. No significant difference was found in any subgroup between standard or high G-CSF dose.

Regarding poor mobilizers incidence (<20 000 CD34+ cells/mL), high G-CSF dose was not associated with a less frequency neither in healthy donors (1 [1.3%] vs 0; $P = .218$) nor in patients (30 [24.4%] vs 32 [18.1%]; $P = .165$). In patients, even if the

Table 2
Multiple linear regression analysis: Variables that affect the mobilization of CD34+ cells

	Beta standardized coefficient	Statistical significance
Health donors		
Age (years)	-0.02	0.76
Gender (Male vs female)	-0.13	0.08
Doses G-CSF (standard vs High doses)	-0.05	0.47
Patients		
Age (years)	-0.08	0.22
Gender (Male vs female)	-0.04	0.47
Underlying pathology	0.12	0.04
Doses G-CSF (standard vs High doses)	-0.11	0.06

comparison was made in each underlying pathology subgroup, no significant differences were found (Table 4).

We analyzed CBC (leukocytes, hemoglobin, and platelets) on the 5th day of mobilization in healthy donors and patients (Table 5). In healthy donors, high-dose G-CSF group was associated with significantly increased leukocyte and platelet count, but a significantly lower hemoglobin value. In patients, high dose of G-CSF was associated with significantly higher platelet count, although, we did not find differences in leukocytes or hemoglobin values.

Regarding safety, any adverse effect grade 3 or higher (according to the CTCAE terminology) was reported among all studied subjects.

Discussion

Our study provides interesting information about HPCs mobilization with high G-CSF dose, presumed to be related with improved CD34+ cell/mL values and reduced poor mobilization incidence. In our study, the use of high G-CSF dose was not associated with an increased CD34+ cell/mL among healthy donors or patients. Also, high G-CSF dose did not reduce the poor mobilization incidence. Lack of influence of high G-CSF dose was also confirmed by multivariate analysis, in which only underlying pathology had a significant influence on CD34+ cells mobilization. Among patients, high G-CSF dose was not associated with improved HPC mobilization outcomes in any specific underlying pathology. Standard G-CSF doses has shown HPCs mobilization failure rates of up to 30% [9,10]. In these cases, it is necessary to perform a greater number of apheresis procedures, what means a greater consumption of resources. Furthermore, it is related to lower quantity of CD34+ cells/Kg of recipient which is associated with negative consequences in HPCs transplantation: worse graft result [28] and in-

Table 4
Differences between both groups in the incidence of poor mobilizers (< 20 000 CD34+ cells/mL) in patients according to underlying pathology

Underlying pathology	Standard dose	High dose	P value
Multiple Myeloma	15/72 (20.8%)	15/108 (13.9%)	.221
No Hodgkin Lymphoma	10/27 (37%)	14/50 (28%)	.414
Hodgkin Lymphoma	2/9 (22.2%)	1/3 (33.3%)	.7
Autoimmune disease	1/3 (33.3%)	2/11 (18.2%)	.571
Solid tumor	1/4 (25%)	0/2 (0%)	.439
Crohn disease	0/1 (0%)	0/2 (0%)	NA

creased use of transfusions and antibiotics [29]. Several studies have described that low dose of G-CSF (3–5 µg/Kg/day) are associated with lower obtained CD34+ cells count [30,31], also correlated with a worse platelet graft [32]. In contrast, some studies with low G-CSF dose (5 µg/Kg/day) obtained similar results of CD34+ cells/mL in comparison with standard dose [33]. HPCs mobilization with higher G-CSF dose have been justified assuming a dose-dependent drug effect, with the hypothesis that a higher G-CSF dose would improve HPCs mobilization outcomes and CD34+ cell/mL values in peripheral blood, which must be associated with a lower mobilization failure incidence, better graft success and a lower consumption of resources. Evidence with this increased posology is scarce, and few studies have compared standard and higher doses [11–17,34]. All of them concluded that high G-CSF dose achieved better HPCs mobilization, with an increased CD34+ cells/mL count and reduced poor mobilizers incidence. As we concluded above, our results are opposed to those previously mentioned, without differences in favor of high G-CSF dose in healthy donors or patients. These results suggest the futility of G-CSF high dose, what would be in line with current clinical consensus document's recommendation what support standard G-CSF dose as initial approach for HPCs mobilization [7,8]. The different outcomes regarding other studies could be explained by our study methodology. Previous studies have important limitations, such as small population studied [12,16,17], others were performed only in healthy donors [11,13], in pediatric population [15] or in adults with non-hematological diseases [14]. In others the effect of G-CSF dose in CD34cells/ml values was not the primary objective [34]. The strength of our work is that it has been done in a large sample of patients and healthy donors and focused on standard and high G-CSF dose comparison. Even so, interindividual differences in G-CSF pharmacokinetics/pharmacodynamics, drug interactions or specific genetics polymorphism could explain the lack of good results with high doses. It might exist a possible "ceiling effect" with these drugs, still not elucidated. Further research and focused studied should be performed to provide more evidence. It is widely

Table 3
CD34+ cells/mL counts in patients according to underlying pathology

Underlying pathology	Standard dose	High dose	P value
Multiple Myeloma	41 710 (21 697 – 77 110) N = 72	34 174 (24 695 – 53 339) N = 108	.159
No Hodgkin Lymphoma	25 330 (16 580 – 33 310) N = 27	32 146 (16 165 – 49 371) N = 50	.253
Hodgkin Lymphoma	38 460 (20 375) N = 9	29 753 N = 3	.482
Autoimmune disease	34 340 N = 3	49 000 (21 613 – 89 483) N = 11	1.0
Solid tumor	27 825 (18 787 – 88 665) N = 4	30 215 N = 2	1.0
Crohn disease	116 520 N = 1	120 040 N = 3	1.0

Values are expressed as median (interquartile range)

- in adult patients with acute myeloid leukaemia, an Acute Leukaemia working party analysis in 2262 patients. *J Intern Med* 2012;272:472–83 doi: [10.1111/j.1365-2796.2012.02547.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2012.02547.x).
- [2] Ruggeri A, Labopin M, Bacigalupo A, Gūlbas Z, Koc Y, Blaise D, et al. Bone marrow versus mobilized peripheral blood stem cells in haploidentical transplants using posttransplantation cyclophosphamide. *Cancer* 2018;124:1428–37 doi: [10.1002/cncr.31228](https://doi.org/10.1002/cncr.31228).
 - [3] Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, Theurich S, Skoetz N, Scheid C, et al. Bone marrow versus peripheral blood allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for haematological malignancies in adults. *Cochrane Database of Syst Rev* 2014(4):CD010189 doi: [10.1002/14651858.CD010189.pub2](https://doi.org/10.1002/14651858.CD010189.pub2).
 - [4] Pulsipher MA, Chitphakdithai P, Logan BR, Shaw BE, Wingard JR, Lazarus HM, et al. Acute toxicities of unrelated bone marrow versus peripheral blood stem cell donation: Results of a prospective trial from the National Marrow Donor Program. *Blood* 2013;121:197–206 doi: [10.1182/blood-2012-03-417667](https://doi.org/10.1182/blood-2012-03-417667).
 - [5] Wicherska-Pawlowska K, Rybka J, Prajs I, Szmigiel K, Tyc J, Frączak E, et al. The comparison of effectiveness and safety between different biosimilars of G-CSF in the mobilization of peripheral blood stem cells (PBSCs) for autologous transplantation (autologous peripheral blood stem cell transplantation, auto-PBCT). *J Clin Apher* 2020;35:4–8 doi: [10.1002/jca.21750](https://doi.org/10.1002/jca.21750).
 - [6] Korkmaz S, Altuntas F. What is the role of biosimilar G-CSF agents in hematopoietic stem cell mobilization at present? *Transfus Apher Sci* 2017;56:795–9 doi: [10.1016/j.transci.2017.11.008](https://doi.org/10.1016/j.transci.2017.11.008).
 - [7] Bueno JL, Alegre A, López-Villar O, Querol S, Arroyo JL, Gotteris R, et al. Agreements and uncertainties in autologous haematopoietic stem cell mobilization and collection. A Spanish consensus document. *Bone Marrow Transplant* 2020;55:811–17 doi: [10.1038/s41409-019-0716-9](https://doi.org/10.1038/s41409-019-0716-9).
 - [8] Duong HK, Savani BN, Copelan E, Devine S, Costa LJ, Wingard JR, et al. Peripheral blood progenitor cell mobilization for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: Guidelines from the American society for blood and marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20:1262–73 doi: [10.1016/j.bbmt.2014.05.003](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.05.003).
 - [9] Bensinger W, DiPersio JF, McCarty JM. Improving stem cell mobilization strategies: Future directions. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:181–95 doi: [10.1038/bmt.2008.410](https://doi.org/10.1038/bmt.2008.410).
 - [10] Pusic I, Jiang SY, Landua S, Uy GL, Rettig MP, Cashen AF, et al. Impact of mobilization and remobilization strategies on achieving sufficient stem cell yields for autologous transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:1045–56 doi: [10.1016/j.bbmt.2008.07.004](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2008.07.004).
 - [11] Kröger N, Renges H, Sonnenberg S, Krüger W, Gutensohn K, Dielschneider T, et al. Stem cell mobilisation with 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ vs 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of G-CSF for allogeneic transplantation in healthy donors. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:727–30 doi: [10.1038/sj.bmt.1703509](https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1703509).
 - [12] Martínez C, Urbano-Ispizua A, Marín P, Merino A, Rovira M, Carreras E, et al. Efficacy and toxicity of a high-dose G-CSF schedule for peripheral blood progenitor cell mobilization in healthy donors. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:1273–8 doi: [10.1038/sj.bmt.1702073](https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1702073).
 - [13] Engelhardt M, Bertz H, Afting M, Waller CF, Finke J. High- versus standard-dose filgrastim (rhG-CSF) for mobilization of peripheral-blood progenitor cells from allogeneic donors and CD34+ immunoselection. *Clin Oncol* 1999;17:2160–72 doi: [10.1200/JCO.1999.17.7.2160](https://doi.org/10.1200/JCO.1999.17.7.2160).
 - [14] Weaver CH, Birch R, Greco FA, Schwartzberg L, Mcaneny B, Moore M, et al. Mobilization and harvesting of peripheral blood stem cells: Randomized evaluations of different doses of filgrastim. *Br J Haematol* 1998;100:338–47 doi: [10.1046/j.1365-2141.1998.00573.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1998.00573.x).
 - [15] Halle P, Kanold J, Rapatel C, Boiret N, Berger M, Stephan JL, et al. Granulocyte colony-stimulating factor alone at 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ vs. 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ for peripheral blood stem cell mobilization in children. *Pediatr Transplant* 2000;4:285–8 doi: [10.1034/j.1399-3046.2000.00128.x](https://doi.org/10.1034/j.1399-3046.2000.00128.x).
 - [16] Koenigsman M, Jentsch-Ullrich K, Mohren M, Becker E, Heim M, Franke A. The role of diagnosis in patients failing peripheral blood progenitor cell mobilization. *Transfusion* 2004;44:777–84 doi: [10.1111/j.0041-1132.2004.03321.x](https://doi.org/10.1111/j.0041-1132.2004.03321.x).
 - [17] Gazitt Y, Freytes CO, Callander N, Tsai TW, Alsina M, Anderson J, et al. Successful PBSC mobilization with high-dose G-CSF for patients failing a first round of mobilization. *J Hematother* 1999;8:173–83 doi: [10.1089/106161299320442](https://doi.org/10.1089/106161299320442).
 - [18] Cid J, Carbassé G, Cid-Caballero M, López-Púa Y, Alba C, Perea D, et al. The Barcelona Hospital Clinic therapeutic apheresis database. *J Clin Apher* 2018;33:259–64 doi: [10.1002/jca.21587](https://doi.org/10.1002/jca.21587).
 - [19] Mohty M, Azar N, Chabannon C, le Guill S, Karlin L, Farina L, et al. Plerixafor in poor mobilizers with non-Hodgkin's lymphoma: A multi-center time-motion analysis. *Bone Marrow Transplant* 2018;53:246–54 doi: [10.1038/s41409-017-0033-0](https://doi.org/10.1038/s41409-017-0033-0).
 - [20] Clark RE, Bell J, Clark JO, Braithwaite B, Vithanarachchi U, McGinnity N, et al. Plerixafor is superior to conventional chemotherapy for first-line stem cell mobilisation, and is effective even in heavily pretreated patients. *Blood Cancer J* 2014;4:e255–6 doi: [10.1038/bcj.2014.79](https://doi.org/10.1038/bcj.2014.79).
 - [21] Wuchter P, Ran D, Bruckner T, Schmitt T, Wizens-Harig M, Neben K, et al. Poor mobilization of hematopoietic stem cells—definitions, incidence, risk factors, and impact on outcome of autologous transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:490–9 doi: [10.1016/j.bbmt.2009.11.012](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.11.012).
 - [22] Olivieri A, Marchetti M, Lemoli R, Tarella C, Iacone A, Lanza F, et al. Proposed definition of “poor mobilizer” in lymphoma and multiple myeloma: An analytic hierarchy process by ad hoc working group Gruppo ItalianoTrapianto di Midollo Osseo. *Bone Marrow Transplant* 2012;47:342–51 doi: [10.1038/bmt.2011.82](https://doi.org/10.1038/bmt.2011.82).
 - [23] Bailén R, Pérez-Corral AM, Pascual C, Kwon M, Serrano D, Gayoso J, et al. Factors predicting peripheral blood progenitor cell mobilization in healthy donors in the era of related alternative donors: Experience from a single center. *J Clin Apher* 2019;34:373–80 doi: [10.1002/jca.21685](https://doi.org/10.1002/jca.21685).
 - [24] Gratama JW, Kraan J, Keeney M, Sutherland DR, Granger V, Barnett D. Validation of the single-platform ISHAGE method for CD34+ hematopoietic stem and progenitor cell enumeration in an international multicenter study. *Cytotherapy* 2003;5:55–65 doi: [10.1080/14653240310000083](https://doi.org/10.1080/14653240310000083).
 - [25] U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), v. 5.0. Published: November 27. https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_reference_5x7.pdf.
 - [26] Kimura S, Ohkawara H, Minakawa K, Fukatsu M, Mori H, Takahashi H, et al. Optimal timing of apheresis for the efficient mobilization of peripheral blood progenitor cells recruited by high-dose granulocyte colony-stimulating factor in healthy donors. *Transfus Apher Sci* 2020;59:102737 doi: [10.1016/j.transci.2020.10.2737](https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.10.2737).
 - [27] Mohty M, Hübel K, Kröger N, Aljurf M, Apperley J, Basak GW, et al. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: A position statement from the European group for blood and marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2014;49:865–72 doi: [10.1038/bmt.2014.39](https://doi.org/10.1038/bmt.2014.39).
 - [28] Stiff PJ, Micallef I, Nademanee AP, Stadtmauer EA, Maziarz RT, Bolwell BJ, et al. Transplanted CD34 + Cell Dose is associated with long-term platelet count recovery following autologous peripheral blood stem cell transplant in patients with non-Hodgkin Lymphoma or Multiple Myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:1146–53 doi: [10.1016/j.bbmt.2010.11.021](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2010.11.021).
 - [29] Gertz MA, Wolf RC, Micallef INM, Gastineau DA. Clinical impact and resource utilization after stem cell mobilization failure in patients with multiple myeloma and lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:1396–403 doi: [10.1111/j.1365-2141.2010.08313.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08313.x).
 - [30] Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, et al. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995;86:4437–45 doi: [10.1182/blood.V86.12.4437.bloodjournal86124437](https://doi.org/10.1182/blood.V86.12.4437.bloodjournal86124437).
 - [31] André M, Baudoux E, Bron D, Canon JL, D'Hondt V, Fassotte MF, et al. Phase III randomized study comparing 5 or 10 μg per kg per day of filgrastim for mobilization of peripheral blood progenitor cells with chemotherapy, followed by intensification and autologous transplantation in patients with nonmyeloid malignancies. *Transfusion (Paris)* 2003;43:50–7.
 - [32] Vaezi M, Shakouri M, Sourfi M, Setareyan MA, Mossavi SA, Mohammadi S, et al. The effects of lower dose CD34 yields after low dose G-CSF induction on long-term autologous stem cell transplantation outcome: A single center study. *Transfus Apher Sci* 2018;57:265–71 doi: [10.1016/j.transci.2018.03.007](https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.03.007).
 - [33] Samaras P, Rützi MF, Seifert B, Bachmann H, Scharz U, Eisenring M, et al. Mobilization of hematopoietic progenitor cells with standard- or reduced-dose filgrastim after vinorelbine in multiple myeloma patients: A randomized prospective single-center phase II study. *Biol. Blood Marrow Transplant* 2018;24:694–9 doi: [10.1016/j.bbmt.2017.12.775](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.12.775).
 - [34] Vasu S, Leitman SF, Tisdale JF, Hsieh MM, Childs RW, Barrett AJ, et al. Donor demographic and laboratory predictors of allogeneic peripheral blood stem cell mobilization in an ethnically diverse population. *Blood* 2008;112:2092–100 doi: [10.1182/blood-2008-03-143677](https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-143677).
 - [35] Stockerl-Goldstein KE, Reddy SA, Horning SJ, Blume KG, Chao NJ, Hu WW, et al. Favorable treatment outcome in non-hodgkin's lymphoma patients with “poor” Mobilization of peripheral blood progenitor cells. *Biol. Blood Marrow Transplant* 2000;6:506–12 doi: [10.1016/S1083-8791\(00\)70021-8](https://doi.org/10.1016/S1083-8791(00)70021-8).
 - [36] Waterman J, Rybicki L, Bolwell B, Copelan E, Pohlman B, Sweetenham J, et al. Fludarabine as a risk factor for poor stem cell harvest, treatment-related MDS and AML in follicular lymphoma patients after autologous hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2012;47:488–93 doi: [10.1038/bmt.2011.109](https://doi.org/10.1038/bmt.2011.109).
 - [37] Paripati H, Stewart AK, Cabou S, Dueck A, Zepeda VJ, Pirooz N, et al. Compromised stem cell mobilization following induction therapy with lenalidomide in myeloma. *Leukemia* 2008;22:1282–4 doi: [10.1038/sj.leu.2405100](https://doi.org/10.1038/sj.leu.2405100).
 - [38] Malard F, Kröger N, Gabriel IH, Hübel K, Apperley JF, Basak GW, et al. Plerixafor for autologous peripheral blood stem cell mobilization in patients previously treated with fludarabine or lenalidomide. *Biol. Blood Marrow Transplant* 2012;18:314–17 doi: [10.1016/j.bbmt.2011.10.003](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2011.10.003).
 - [39] Gertz MA. Current status of stem cell mobilization: Review. *Br. J. Haematol.* 2010;150:647–62 doi: [10.1111/j.1365-2141.2010.08313.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08313.x).
 - [40] Dale DC, Crawford J, Klippel Z, Reiner M, Osslund T, Fan E, et al. A systematic literature review of the efficacy, effectiveness, and safety of filgrastim. *Support Care Cancer* 2018;26:7–20 doi: [10.1007/s00520-017-3854-x](https://doi.org/10.1007/s00520-017-3854-x).
 - [41] Sheridan WP, Fox RM, Begley CG, Maher D, McGrath KM, Begley CG, et al. Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilised by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet* 1992;339:640–4 doi: [10.1016/0140-6736\(92\)90795-5](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)90795-5).

2. *Prediction of blood volume to be processed to achieve a target number of CD34+ cells: development, validation, and implementation of a formula.*

Resumen del artículo:

El cálculo del volumen de sangre total (VST) que se debe procesar para lograr el número objetivo de células CD34+ se puede lograr mediante el uso de la fórmula de eficiencia de recolección (CE2). Nuestro objetivo fue desarrollar una fórmula accesible a través de una web para calcular el VST a procesar.

Para ello calculamos la CE2 de las aféresis realizadas entre enero de 2015 y marzo de 2020 en donantes sanos y pacientes. Desde mayo de 2020 hasta mayo de 2021, validamos una fórmula:

VST a procesar = (Células objetivo CD34+ en el producto) / (Células CD34+ preaféresis x CE2) *100.

Posteriormente, comparamos los resultados de la implementación de esta fórmula (post-fórmula) con los resultados de los procedimientos realizados antes de su implementación (pre-fórmula), cuando se realizaba la recolección de volumen de sangre total estándar de 3 volemias.

La CE2 se calculó en 384 procedimientos de aféresis. La CE2 fue mayor en los donantes sanos que en los pacientes (53±17% vs 48±15%; p=0,008). La CE2 fue mayor en MM y LNH que en LH (48±15%, 48±15% y 42±13% respectivamente; p=0,008). Nuestra fórmula (disponible en un sitio web: [Publisheet](#)) se utilizó prospectivamente en 54 individuos. La fórmula fue muy precisa: las células CD34+/Kg predichas frente a las recolectadas tuvieron un valor r de 0,89 (p < 0,0001). Comparamos sus resultados con 78 individuos pre-fórmula. En el grupo post-fórmula se procesó mayor BV en pacientes y menor BV en donantes alogénicos. Entre los menores de 60 años fue significativamente menos frecuente la necesidad de más de una aféresis en el grupo post-fórmula.

Prediction of blood volume to be processed to achieve a target number of CD34+ cells: Development, validation and implementation of a formula

Irene García-García¹  | Joan Cid²  | Gemma Moreno-Jiménez¹ |
María Tenorio Núñez¹ | Ana Jiménez Martín¹ | Ana Vallés Carboneras¹ |
Kyra Velázquez-Kennedy¹ | Miquel Lozano²  | Francisco-Javier López-Jiménez¹

¹Department of Haematology and Hemotherapy, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, Spain

²Apheresis & Cellular Therapy Unit, Department of Hemotherapy and Haemostasis, ICMHO, IDIBAPS, Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

Correspondence

Irene García-García, Department of Haematology and Hemotherapy, Hospital Ramón y Cajal, M-607, 9, 100, 28034 Madrid, Spain.
Email: irene.garciag05@gmail.com

Funding information

The authors received no specific funding for this work.

Abstract

Background and Objectives: Calculation of blood volume (BV) to be processed to achieve the target number of CD34+ cells can be accomplished by using collection efficiency 2 (CE2) formula. Our aim was to develop a BV web formula.

Materials and Methods: We calculated CE2 from aphereses performed between January 2015 and March 2020 in allogeneic donors and patients. From May 2020 to May 2021, we validated a formula: $BV = ((\text{Target CD34+ cells in the product}) / (\text{CD34+ pre-apheresis cells} \times \text{CE2})) \times 100$. Subsequently, we compared the outcome of the procedures carried out before formula implementation (pre-formula), when standard three total BV collection was performed.

Results: CE2 was assessed in 384 apheresis procedures before formula implementation. CE2 was higher in allogeneic donors than in patients ($53\% \pm 17\%$ vs. $48\% \pm 15\%$, $p = 0.008$). CE2 was higher in multiple myeloma and non-Hodgkin lymphoma than Hodgkin's lymphoma ($48\% \pm 15\%$, $48\% \pm 15\%$ and $42\% \pm 13\%$, respectively; $p = 0.008$). Our formula (available on a website: [Publisheet](#)) was prospectively used in 54 individuals. The formula was very accurate: predicted versus observed CD34+ cells/kg collected had an r -value of 0.89 ($p < 0.0001$). We compared their results with 78 pre-formula individuals. In the post-formula group, a greater BV was processed in patients and less BV in allogeneic donors. Among individuals under 60 years of age, it was significantly less frequent than the need for more than one apheresis in the post-formula group.

Conclusion: Formula calculations were accurate. Formula implementation allowed the optimization of the procedures and reduced the rate of individuals in need of apheresis for more than 1 day.

Keywords

allogeneic, apheresis, autologous, CD34+ collection, total blood volume

Highlights

- We developed a formula, accessible through a web page, to calculate blood volume to be processed to achieve a target number of CD34+ cells in stem cell collections by apheresis.

- The formula has the added value of a tailored calculation depending on previous known apheresis outcome modifiers such as haematological underlying disease.
- With the implementation of the formula, we evidenced better resource optimization by reducing the number of apheresis procedures needed to reach a target number of CD34+ cells.

INTRODUCTION

Haematopoietic cell transplantation (HCT) requires an adequate number of CD34+ cells to be infused [1]. In autologous HCT, a linear relationship has been observed between the quantity of CD34+ cells and the time to engraftment of platelets [2] and neutrophils [3, 4].

Collection of haematopoietic cells from peripheral blood using an apheresis device is the main source of CD34+ cells. Each individual has specific total blood volumes (TBVs). In each apheresis procedure, it is necessary to process several TBVs to reach the target number of CD34+/kg. The total amount of blood that is processed in each procedure is the blood volume (BV) processed.

Several factors have been associated with an appropriate number of CD34+ cells collected: circulating CD34+ cells in peripheral blood before starting, recipient weight, BV processed and collection efficiency (CE) [5, 6]. However, no standard prediction algorithm has been established yet.

Calculation of the BV to be processed applies to the CE of our procedure. CE refers to the number of CD34+ cells collected from the total number of CD34+ cells processed by the apheresis device.

Two ways to calculate CE are attainable: CE1 and CE2. With regard to CE1, it is necessary to know the quantity of CD34+ cells before starting the procedures and the quantity of CD34+ cells in peripheral blood after finishing the apheresis. Concerning CE2, only the quantity of CD34+ cells in peripheral blood before starting the apheresis procedure is needed.

Using the CE2 value, we can calculate the BV to be processed to reach the target number of CD34+ cells: BV to be processed = ((Target CD34+ cells in the product)/(CD34+ pre-apheresis cells × CE2)) × 100. Still and all, CE2 values may differ in the procedures [7].

We aimed to study which variables can alter CE2. Previous studies have reported distinct CE2 values depending on certain variables: age, gender, plerixafor use, haematological disease, allogeneic donor, day of apheresis, radiotherapy, lines of chemotherapy and used drug (alkylating drugs or lenalidomide) [7-10].

Once we understood which variables affected CE2, we were able to contrive a formula accessible through a website and adjustable with a different specific CE2 in each individual, considering the results of the variables that can affect CE2. Along with this, we also performed an internal validation of its usefulness in a real-world cohort of individuals (patients and allogeneic donors), and we compared several outcomes before and after its implementation to show its potential benefit on apheresis procedures optimization.

MATERIALS AND METHODS

Prior approval was requested from the Ethics Committee for Drug Research of Ramón y Cajal Hospital. The committee gave a favourable response to carry out the study. All the individuals involved (patients and allogeneic donors) signed an informed consent before mobilization and apheresis protocol.

Formula development

To create a formula that would allow calculating the amount of BV to process, we retrospectively identified consecutive CD34+ cell collections in allogeneic donors and patients performed from January 2015 to March 2020.

The following data were collected: quantity of CD34+ cells before starting apheresis (on the morning of the fifth day after starting Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF), CD34+ cells/kg recipient in collected products and the quantity of BV processed. With these variables, it was possible to calculate CE2 in all procedures:

$$CE2 = ((CD34+ \text{ total cells in product}) / (CD34+ \text{ pre-apheresis cells} \times BV \text{ processed})) \times 100.$$

To optimize and assure the procedure's success, we studied whether there were variables that could significantly influence CE2. In line with this, we were able to make various groups of individuals with different CE2 values. We used a different CE2 value in the BV formula to be processed in each group.

After CE2 calculation, we created a formula to calculate the BV to be processed:

$$BV \text{ to be processed} = ((\text{Target CD34+ cells in the product}) / (CD34+ \text{ pre-apheresis cells} \times CE2)) \times 100.$$

In this formula, a distinct value of CE2 was used depending on the group to which each individual belonged to.

To minimize the odds of under-collection, BV formula was calculated with the 16th percentile of the CE2. Using the 16th percentile, we only assume ≤16% of cases whose usage was a lower CE2 than expected (the mean - one SD approximately).

To make this formula accessible, a web page was created.

Apheresis-related parameters

All individuals (allogeneic donors and patients) were mobilized with 5 µg/kg/12 h of G-CSF. No individual was mobilized with chemotherapy. The first determination of pre-apheresis CD34+ cells/µL was obtained on day +4 of mobilization with G-CSF. Depending on the

result, some individuals required administration of plerixafor as well. The protocol was as follows:

1. If CD34+ cells $\geq 17/\mu\text{L}$: apheresis was performed on day +4.
2. If CD34+ cells $>10/\mu\text{L}$ and $<17/\mu\text{L}$: we calculated whether the individual would reach the target number of CD34+ cells/kg using a predictive calculation. If the prediction was favourable for achieving this target, apheresis was started that day, if not, 240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of plerixafor was administered and apheresis was started the following day (day +5).
3. If CD34+ cells $<10/\mu\text{L}$, 240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of plerixafor was administered and apheresis was started the following day (day +5).

The target number of CD34+ /kg was different regarding the individual: 2×10^6 in patients who were undergoing just one autologous HCT, 4×10^6 in patients who were going to undergo two autologous HCTs, 4×10^6 in related Human Leukocyte Antigen (HLA) identical allogeneic donors and 5×10^6 in related haploidentical allogeneic donors or unrelated allogeneic donors.

Complete blood count was carried out on allogeneic donors and patients in blood samples drawn at two moments: immediately before starting apheresis and just after finishing the procedure. CD34+ cell counts in peripheral blood and collected products were measured by flow cytometry, using single-platform fluorescence analysis (International Society for Haematotherapy and Graft Engineering protocol) [5] on a flow cytometer (BD FACS Canto II).

All apheresis procedures were performed with Spectra Optia (Terumo BCT) with cMNC protocol.

Before formula implementation, three TBVs were processed without performing individualized previous calculations. After formula development, BV to be processed was calculated in each individual. A maximum of four and minimum two TBVs were established in each procedure. If >4 TBVs were estimated, it was considered necessary to divide it into two procedures. Therefore, carrying out the calculation of BV divided in each procedure was essential. For example, if the formula calculated that it was necessary to process six TBVs to reach the target number of CD34+ /kg on a patient, four TBVs were processed on the first day. On the second day, taking into account the remaining

number of CD34+ /kg required, it was necessary to calculate the BV to be processed again.

In those collections where more than 3 TBVs were processed, calcium chloride 10% and magnesium sulphate 150 mg/mL were started in the middle of the procedure according to the following formulas: Calcium chloride 10% (mL) = ((Volume to be processed in mL \times 0.06) \times 0.5)/18.3. Magnesium sulphate 150 mg/mL (mL) = ((Volume to be processed in mL \times 0.15) \times 0.5)/15.

All the adverse events presented by the individuals during the apheresis procedures were recorded.

Formula internal validation and implementation

We implemented the formula in the apheresis procedures in our centre from May 2020 to May 2021.

To test the hypothesis of the predictive ability of our formula, we evaluated the following variables: number of days needed for apheresis, TBVs needed to process and prediction of more than 1-day apheresis collection. In addition, to analyse the ability of the formula to reduce the days needed for apheresis, we compiled the results and details of the procedures performed in our centre from January 2019 to December 2019 (before the implementation of the formula, when a standard three TBVs collection was carried out in all individuals) to perform a comparative analysis of results, before and after implementation of our formula (pre-formula vs. post-formula).

Statistical analysis

Categorical variables were reported as frequency and percentage. Continuous and discrete quantitative variables were described as mean \pm standard deviation (SD) and median (range), respectively. For the correlations between categorical variables, we used chi-square test.

Comparison of two or more groups of quantitative variables with normal distribution was performed with Student's t-test and

TABLE 1 Collection efficiency 2 (CE2) results according to the variables studied.

Individuals	Number of apheresis procedures	Gender (male:female)	Age median (range)	CE2 (mean \pm SD)	CE2 16th percentile (%)
Allogeneic donors	161	1:1	42 (32–54)	53% \pm 17%	38
Day +4	76	1:1	38 (32–51)	58% \pm 15%	43
Day >4	85	1:1	47 (34–55)	48% \pm 13%	35
Patients	223	1:1	58 (49–65)	48% \pm 15%	34
Multiple myeloma without plerixafor	107	1:1	59 (52–75)	50% \pm 13%	37
Multiple myeloma with plerixafor	28	1:2	65 (62–67)	41% \pm 17%	24
Non-Hodgkin lymphoma	71	1:1	57 (48–65)	48% \pm 15%	33
Hodgkin lymphoma	17	2:1	36 (24–51)	42% \pm 13%	29

Abbreviation: SD, standard deviation.

analysis of variance test, respectively. When quantitative variables were not normally distributed, Mann-Whitney U test and the Kruskal-Wallis test were used. To analyse the relationship

between the CD34+ cells obtained and the CD34+ cells predicted by the formula, we used the Spearman correlation coefficient. A p-value of <0.05 was statistically significant. Statistical

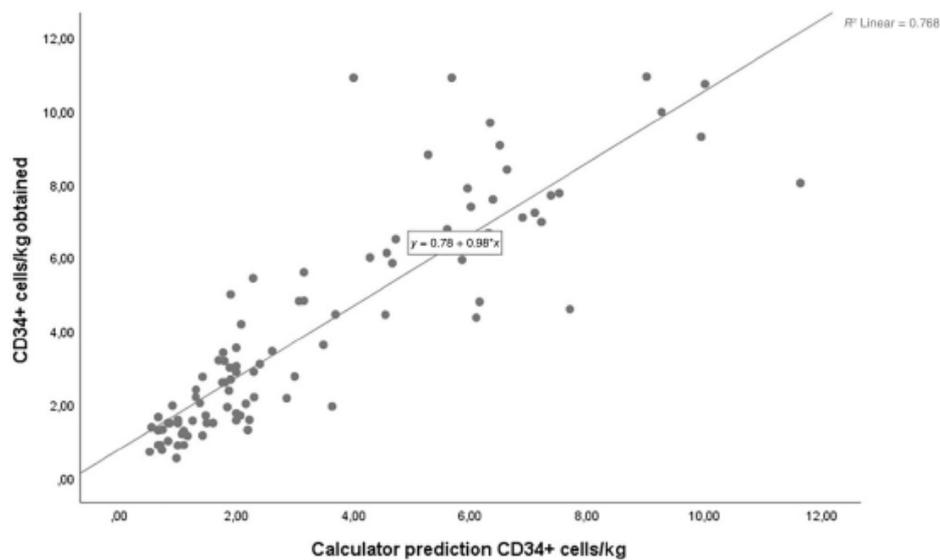


FIGURE 1 Correlation between CD34+ cells/kg obtained (y-axis) and predicted CD34+ cells/kg (x-axis) using the described collection efficiency 2-based formula. Correlation coefficient (ρ) is 0.89, $p < 0.0001$.

TABLE 2 Characteristics of individuals analysed.

		Pre-formula (2019), N = 78	Post-formula (2020–2021), N = 54
Gender	Male	38 (48.7%)	34 (63%)
	Female	40 (51.3%)	20 (37%)
Age ^a		50.5 (36.5–61.75)	53.5 (38–62)
Underlying pathology ^b	Allogeneic donor	23 (29.5)	17 (31.5)
	Multiple myeloma	24 (30.8)	17 (31.5)
	Non-Hodgkin lymphoma	13 (16.7)	14 (26)
	Hodgkin lymphoma	7 (9)	5 (9.1)
	Others	3 (3.8)	1 (1.9)
Factors of poor mobilization ^c		39 (50)	36 (48)
Chemotherapy ^d		4 (5.1)	0 (0)
Plerixafor ^e		16 (20.5)	13 (24)
Apheresis onset day	+4	67 (85.9)	41 (76)
	+5	9 (11.5)	13 (24)
	+6	2 (2.6)	0 (0)
TBV millilitres (mean \pm SD)		4584 \pm 951	4596 \pm 794
CD34+ cells/ μ L pre-apheresis (mean \pm SD)		45.66 \pm 39.97	54.32 \pm 53.35

Abbreviation: SD, standard deviation.

^aYears: Median (interquartile range).

^bNumber of individuals (percentage).

^cPoor mobilization factors: treatment with three or more lines of chemotherapy, radiotherapy, alkylating drugs, lenalidomide or being 60 years or older.

Values are expressed as number of individuals (percentage).

^dIndividuals who received chemotherapy as part of the mobilization.

^eIndividuals who received plerixafor as part of the mobilization.

analysis and figures were accomplished using IBM SPSS Statistics 25 (IBM Corporation, Armonk, New York).

RESULTS

Formula development

CE2 calculation was performed using data from 384 consecutive apheresis procedures in 240 individuals (116 allogeneic donors and 124 patients). CE2 was statistically significantly higher in healthy donors than in patients ($53\% \pm 17\%$ vs. $48\% \pm 15\%$, $p = 0.008$). In healthy donors, CE2 was higher on day +4 versus >4 ($58\% \pm 15\%$ vs. $48\% \pm 13\%$, $p < 0.001$). Likewise, we found differences in CE2 according to patients' diagnoses. CE2 values were higher in multiple myeloma (MM) and non-Hodgkin lymphoma than Hodgkin's lymphoma ($48\% \pm 15\%$, $48\% \pm 15\%$ and $42\% \pm 13\%$, respectively; $p = 0.008$). A lower CE2 was found in MM patients mobilized with plerixafor than those without ($41\% \pm 17\%$ vs. $50\% \pm 13\%$, $p = 0.002$). No differences in CE2 were observed in patients depending on the day of apheresis +4 versus >4. The following analysed variables did not influence CE2 values significantly: age, sex, radiotherapy, lines of chemotherapy and used drug (alkylating drugs or lenalidomide). The results of CE2 that presented statistically significant differences and that were later used to carry out the prediction formula are collected in Table 1.

With these results of the CE2 for each group of individuals, the BV formula could be generated. To make this formula accessible, we created a web page that can be freely accessed through the following link: [Publisheet](#).

Formula implementation and internal validation

BV to be processed was calculated using 16th percentile of CE2 (Table 1) in 68 apheresis procedures, performed on 54 individuals (17 allogeneic donors and 37 patients).

In 60 procedures (88%), because of the prediction of our formula, sufficient volume was processed to reach the target number of CD34+ cells collected. Only in the remaining 12%, the volume to reach the target number of CD34+ cells was insufficient. We analysed the predictive capacity of the formula. Predicted versus observed data showed that the number of CD34+ cells/kg collected had an r -value of 0.89 ($p < 0.0001$), demonstrating a linear correlation (Figure 1).

In 11 (20%) of 54 individuals (2 allogeneic donors, 5 MMs and 4 non-Hodgkin lymphomas), the formula predicted more than one apheresis procedure from the beginning. Two apheresis procedures were performed on these individuals given that if only one was performed, it would be necessary to process a large volume (>4 TBV). Each day, BV needed to be processed was calculated using the formula, processing a maximum of four TBVs on the first day and the remaining amount needed to reach the desired target of CD34+ cells on the second day.

TABLE 3 Results of blood volume (BV), total blood volumes (TBVs) and duration of the apheresis procedures in pre-formula and post-formula groups.

Individuals	First day BV processed (mean \pm SD)		Total BV processed (mean \pm SD)		First day TBV processed (mean \pm SD)		Total TBV processed (mean \pm SD)		First day duration of the apheresis minutes (mean \pm SD)		Total duration of the apheresis minutes (mean \pm SD)	
	Pre ^a	Post ^b	Pre ^a	Post ^b	Pre ^a	Post ^b	Pre ^a	Post ^b	Pre ^a	Post ^b	Pre ^a	Post ^b
Allogeneic donors	13,344 \pm 2129	13,390 \pm 4788	17,142 \pm 6684	13,662 \pm 5211	2.88 \pm 0.25	2.85 \pm 0.86	3.79 \pm 1.8	3.2 \pm 1.65	222 \pm 21	217 \pm 68	285 \pm 125	229 \pm 96
Patients	13,294 \pm 2205	16,456 \pm 4561	16,452 \pm 5766	19,622 \pm 7739	2.92 \pm 0.31	3.64 \pm 0.62	3.65 \pm 1.24	4.4 \pm 1.44	209 \pm 17	253 \pm 46	262 \pm 85	306 \pm 104
Multiple myeloma without plerixafor	12,811 \pm 2398	17,577 \pm 3141	15,769 \pm 5691	19,969 \pm 4810	2.9 \pm 0.3	3.68 \pm 0.53	3.66 \pm 1.14	4.22 \pm 1.13	211 \pm 19	259 \pm 37	263 \pm 83	303 \pm 75
Multiple myeloma with plerixafor	12,493 \pm 2269	11,628 \pm 5905	16,792 \pm 6370	14,090 \pm 8925	3.06 \pm 0.29	3.5 \pm 0.58	4.49 \pm 1.75	4 \pm 0.82	202 \pm 9	232 \pm 37	303 \pm 118	268 \pm 58
Non-Hodgkin lymphoma	13,988 \pm 1787	16,923 \pm 4359	16,790 \pm 6097	21,325 \pm 9036	2.82 \pm 0.22	3.78 \pm 0.49	3.37 \pm 1.17	4.74 \pm 1.77	210 \pm 12	264 \pm 36	250 \pm 83	337 \pm 111
Hodgkin lymphoma	14,424 \pm 1833	15,937 \pm 6156	16,126 \pm 3693	15,937 \pm 6156	3.04 \pm 0.46	3.2 \pm 1.1	3.41 \pm 0.82	3.65 \pm 0.93	215 \pm 23	215 \pm 73	249 \pm 80	215 \pm 73
Others	12,044 \pm 2610	18,381	20,522 \pm 13,584	32,167	2.97 \pm 0.29	4	4.71 \pm 2.7	7	195 \pm 9.5	315	292 \pm 150	551

Abbreviation: SD, standard deviation.

^aPre-formula implementation.

^bPost-formula implementation.

8. Cid J, Carbassé G, Alba C, Perea D, Lozano M. Leukocytapheresis in nonmobilized donors for cellular therapy protocols: evaluation of factors affecting collection efficiency of cells. *J Clin Apher.* 2019;34:672-9.
9. Azzouqa AGM, Jouni K, Roy V, Zubair AC. Impact of good and poor mobilizers on hematopoietic progenitor cell collection efficiency and product quality. *J Clin Apher.* 2019;34:39-43.
10. Cid J, Castillo C, Marin P, Carbassé G, Herrera D, Monfort N, et al. Increased collection efficiency of CD34+ cells after mobilization with preemptive use of plerixafor followed by leukocytapheresis on the same day. *Transfusion.* 2020;60:779-85.
11. Yuan S, Ziman A, Smeltzer B, Lu Q, Goldfinger D. Moderate and severe adverse events associated with apheresis donations: incidences and risk factors. *Transfusion.* 2010;50:478-86.
12. Cousins AF, Sinclair JE, Alcom MJ, Green RHA, Douglas KW. HPC-A dose prediction on the Optia® cell separator based on a benchmark CE2 collection efficiency: promoting clinical efficiency, minimizing toxicity, and allowing quality control. *J Clin Apher.* 2015;30:321-8.
13. Leberfinger DL, Badman KL, Roig JM, Loos T. Improved planning of leukapheresis endpoint with customized prediction algorithm: minimizing collection days, volume of blood processed, procedure time, and citrate toxicity. *Transfusion.* 2017;57:685-93.
14. Ono Y, Yoshioka S, Inoue K, Yoshida M, Maruoka H, Ishikawa T. Stochastic model based on preharvest peripheral CD34-positive cell count and collection efficiency predicting processed blood volume in peripheral hematopoietic stem cell apheresis. *Transfusion.* 2019;59:671-80.
15. Godbey EA, Dormesy S, Gowda L, Nandi V, Paradiso S, Sachais BS, et al. A dual strategy to optimize hematopoietic progenitor cell collections: validation of a simple prediction algorithm and use of collect flow rates guided by mononuclear cell count. *Transfusion.* 2019;59:659-70.
16. de Almeida-Neto C, Rocha V, Moreira FR, Hamasaki DT, de Farias MC, Arrifano AM, et al. Validation of a formula predictive of peripheral blood stem cell yield and successful collection in healthy allogeneic donors. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2020;42:164-165.e5.
17. Kango G, Haroun F. Filgrastim induced thrombocytopenia. *BMJ Case Rep.* 2020;13:1-4.
18. Kobayashi T, Kamada I, Komura J, Toyoshima S, Ishii-Watabe A. Comparative study of the number of report and time-to-onset of the reported adverse event between the biosimilars and the originator of filgrastim. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2017;26:917-24.
19. Kessans MR, Gatesman ML, Kockler DR. Plerixafor: a peripheral blood stem cell mobilizer. *Pharmacotherapy.* 2010;30:485-92.
20. Niinomi I, Hosohata K, Oyama S, Inada A, Wakabayashi T, Iwanaga K. Evaluation of adverse events associated with filgrastim originator and biosimilar using a spontaneous reporting system database. *Pharmazie.* 2020;75:151-3.
21. Bilgin YM. Use of plerixafor for stem cell mobilization in the setting of autologous and allogeneic stem cell transplantations: an update. *J Blood Med.* 2021;12:403-12.
22. Long G, Waller EK, Gregurek S, Tricot G, Marschner S, Bill J. Evaluation of the Spectra Optia® mononuclear cell collection procedure in multiple myeloma patients. *J Clin Apher.* 2015;30:1-7.
23. Karafin MS, Graminske S, Erickson P, Walters MC, Scott EP, Carter S, et al. Evaluation of the spectra optia apheresis system for mononuclear cell (MNC) collection in G-CSF mobilized and nonmobilized healthy donors: results of a multicenter study. *J Clin Apher.* 2014;29:273-80.
24. Flommersfeld S, Bakchoul T, Bein G, Wachtel A, Loecheit C, Sachs UJ. A single center comparison between three different apheresis systems for autologous and allogeneic stem cell collections. *Transfus Apher Sci.* 2013;49:428-33.
25. Reinhardt P, Brauninger S, Bialleck H, Thorasch K, Smith R, Schrezenmeier H, et al. Automatic interface-controlled apheresis collection of stem/progenitor cells: results from an autologous donor validation trial of a novel stem cell apheresis device. *Transfusion.* 2011;51:1321-30.
26. Lee SN, Sohn JY, Kong JH, Eom HS, Lee H, Kong SY. Comparison of two apheresis systems of COBE and Optia for autologous peripheral blood stem cell collection. *Ann Lab Med.* 2017;37:327-30.

How to cite this article: García-García I, Cid J, Moreno-Jiménez G, Tenorio Núñez M, Jiménez Martín A, Vallés Carboneras A, et al. Prediction of blood volume to be processed to achieve a target number of CD34+ cells: Development, validation and implementation of a formula. *Vox Sang.* 2023.

Discusión

Como hemos mencionado en el apartado anterior, el objetivo fundamental de nuestro trabajo fue el de optimizar la movilización y aféresis de PHSP. De ahí surgió la hipótesis de que dosis elevadas de G-CSF que habían sido utilizadas previamente en otros estudios(46)(47)(48)(49)(50)(51)(52)(93) podían ser beneficiosas para la movilización de ciertos individuos, sobre todo para aquellos en los que podría ser esperable una mala movilización por factores predisponentes como edad avanzada, estadios avanzados de enfermedad de base, uso previo de radioterapia o de quimioterapias como fludarabina, melfalán, lenalidomida o fármacos alquilantes. (94)(95)(96)(97)

Uno de los estudios realizados hasta la fecha con dosis elevadas de G-CSF fue un estudio de 1997 en pacientes con cáncer de mama movilizadas para TPH autólogo(49). Se analizaron en total 90 pacientes que se aleatorizaron a recibir dosis de filgrastim de 10, 20 y 30 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$. En los resultados obtenidos, la cantidad de células CD34+/Kg en el producto fueron significativamente superiores en las pacientes que habían recibido dosis de 20, 30 o 40 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$. Hay que tener en cuenta que se trata de un estudio antiguo y realizado en pacientes no hematológicos.

Otro de los estudios realizados fue un estudio retrospectivo en 90 donantes sanos.(46) En este caso se compararon dosis de 16 vs 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$, grupos 1 y 2 respectivamente. Ambos grupos estaban bien balanceados y eran comparables en cuanto edad y peso. La aféresis se realizó en todos los casos en el día +5. La incidencia de efectos adversos leves fue similar en ambos grupos, sin embargo, solo ocurrieron efectos adversos graves en el grupo 2. El 45% de los individuos del grupo 1 y el 61% del grupo 2 alcanzaron el objetivo establecido de movilización de 5×10^6 CD34+/Kg en la primera aféresis. Por tanto, como conclusión de este estudio podemos extraer que las dosis elevadas de G-CSF obtuvieron mejores resultados de movilización, pero con un mayor riesgo de efectos adversos graves. Otros dos estudios realizados en donantes sanos, uno de ellos comparando dosis de 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$ vs 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$, y el otro

16 µg/Kg/día vs 10 µg/Kg/día, obtuvieron también resultados a favor de utilizar dosis elevadas de G-CSF, con unos mejores resultados de movilización de PHSP.(93)(47). Los resultados de estos estudios están resumidos en la tabla 2.

Tabla 2. Estudios realizados con dosis altas de G-CSF.

Estudio. Año	Individuos analizados	N individuos	Dosis de G-CSF comparadas	Dosis con mejores resultados
Weaver et al. 1997.	Pacientes con cancer de mama	90	10, 20 y 30 µg/Kg/día	20, 30 o 40 µg/Kg/día
Kroger et al. 2002	Donantes sanos	90	10 y 16 µg/Kg/día	16 µg/Kg/día
Halle et al. 2000	Niños con tumores sólidos o leucemias agudas	71	10 y 20 µg/Kg/día	20 µg/Kg/día
Vasu et al. 2008	Donantes sanos	639	10 y 16 µg/Kg/día	16 µg/Kg/día
Martínez et al. 1999	Donantes sanos	40	10 y 20 µg/Kg/día	20 µg/Kg/día
Koenigsmann et al. 2004	Pacientes con LMA	13	25 µg/Kg/día	25 µg/Kg/día

También otros dos estudios realizados en pacientes, uno de ellos en pacientes pediátricos con leucemias agudas o tumores sólidos y el otro en pacientes adultos con leucemia aguda, comparando dosis de G-CSF de 20 µg/Kg/día vs 10 µg/Kg/día y 25 µg/Kg/día vs 10 µg/Kg/día respectivamente, han aportado datos a favor de la utilización de dosis elevadas de G-CSF.(50)(51)

La hipótesis de que dosis altas de G-CSF pueden realizar una mejor movilización desde médula ósea a sangra periférica de PHSP se justifica asumiendo un efecto del fármaco dependiente de la dosis, de tal forma que una dosis más alta de G-CSF mejoraría los resultados de la movilización de PHSP y los valores de células CD34+/mL en sangre periférica, lo que debería traducirse en una menor incidencia de fracaso de la movilización y menor consumo de recursos.

Sin embargo, en nuestro estudio, el uso de dosis altas de G-CSF no se asoció con un aumento de células CD34+/ml movilizados en donantes sanos ni en pacientes.

Para analizar qué factores podían influir y cuales no sobre los resultados de movilización de PHSP, basándonos en los factores de mala movilización previamente descritos, llevamos a cabo un análisis multivariante. En este análisis, las variables edad, género y dosis de G-CSF no mostraron influencia sobre el resultado de movilización de CD34+. Sin embargo, entre los pacientes si encontramos que la patología de base tenía influencia en la movilización de CD34+.

Teniendo en cuenta este resultado, decidimos realizar un análisis por grupos de patologías para comprobar si en alguna de ellas las dosis altas de G-CSF podían ser beneficiosas. Tampoco en estos análisis encontramos beneficio de dosis altas en ninguna de las patologías analizadas.

Hay que tener en cuenta que las patologías hematológicas más frecuentes que requieren movilización de PHSP para el trasplante autólogo estuvieron bien representadas en estos grupos ya que el estudio contó con una N elevada de individuos. Sin embargo, las patologías no hematológicas como pacientes con enfermedades autoinmunes, tumores sólidos o enfermedad de Crohn tuvieron un número reducido de individuos en nuestro estudio. En estos últimos grupos si se observó una tendencia a beneficiarse de dosis altas de G-CSF, pero no fue estadísticamente significativa. Por este motivo consideramos que sería necesaria la realización de estudios enfocados en estos subgrupos de pacientes con enfermedades no hematológicas para dilucidar el beneficio o la inutilidad de una dosis más alta de G-CSF entre ellos.

Por otro lado, en el estudio realizado, también analizamos si las dosis altas de G-CSF podían producir un beneficio en cuánto a disminuir la proporción de pacientes malos movilizados (<20 000 CD34+ cells/mL). Decidimos realizar también este análisis ya que los individuos que al movilizar obtienen cifras de CD34+ tan bajas habitualmente tienen que someterse de nuevo a protocolos de movilización debido a que se consideran fallos de movilización o bien tienen que recibir plerixafor para intentar mejorar la movilización.

En el estudio realizado, no encontramos que las dosis altas de G-CSF consiguieran disminuir la incidencia de malos movilizadores. Dado que, como hemos dicho, en el análisis multivariante encontramos que la enfermedad de base influía sobre la movilización de CD34+, realizamos en este caso también un análisis por grupos de patologías. En ninguno de los grupos de patologías analizados encontramos diferencias en esta incidencia de pobres movilizadores utilizando dosis estándar o dosis altas de G-CSF.

Como conclusión a nuestro estudio podemos decir, por tanto, que las dosis elevadas de G-CSF no produjeron una mejoría en la movilización de CD34+ respecto a las dosis estándar y tampoco una disminución en la incidencia de pobres movilizadores.

Estos resultados contrastan con los obtenidos en los estudios previos de utilización de dosis elevadas de G-CSF que comentamos en la introducción de este trabajo.

Todos ellos concluyeron que las dosis altas de G-CSF lograron una mejor movilización de PHSP, con un aumento del recuento de células CD34+/mL y una reducción de la incidencia de movilizadores deficientes.(46)(47)(48)(49)(50)(51)(52)(93)

Como concluimos anteriormente, nuestros resultados son opuestos a los mencionados anteriormente, sin diferencias a favor de dosis altas de G-CSF en donantes sanos o pacientes. Estos resultados sugieren la inutilidad de la dosis altas de G-CSF, lo que estaría en línea con la recomendación del documento de consenso clínico actual que respalda la dosis estándar de G-CSF como enfoque inicial para la movilización de PHSP.(42)(98)

Las diferencias encontradas respecto a los hallazgos en otros estudios podrían explicarse en parte por la metodología de nuestro estudio. Los estudios realizados previamente tenían algunas limitaciones como una N pequeña, (51)(47)(52) otros fueron realizados solo en donantes sanos sin incluir pacientes,(46)(48) o solo en pacientes pediátricos, sin incluir población adulta,(50) o en adultos con patologías no hematológicas,(49) mientras que en

otros el efecto del G-CSF sobre la movilización de PHSP no fue el objetivo primario del estudio.(93)

La ventaja de nuestro trabajo respecto a los realizados previamente para el análisis de dosis altas de G-CSF fue que se realizó en una gran muestra de pacientes y donantes sanos, siendo su objetivo primario la comparación de dosis estándar y dosis altas de G-CSF. Teniendo en cuenta estos resultados, podríamos hipotetizar que las diferencias interindividuales en la farmacocinética/farmacodinamia del G-CSF, las interacciones medicamentosas o el polimorfismo genético específico podrían explicar la falta de buenos resultados con dosis altas, pudiendo existir un posible “efecto techo” con estos fármacos, aún no dilucidado.

Por otro lado, en nuestro estudio también analizamos como podían influir las dosis elevadas de G-CSF sobre los recuentos hemoglobina, leucocitos y plaquetas en la movilización. El análisis realizado sobre estos recuentos mostró un recuento significativamente más alto de plaquetas en el grupo de dosis altas de G-CSF, tanto en donantes sanos como en pacientes. Además, los donantes sanos que recibieron dosis altas de G-CSF también tuvieron un recuento significativamente mayor de leucocitos. Estos resultados son esperables dado que el G-CSF es un fármaco estimulador de colonias.(99)(100)

Otra cuestión que había que plantearse con el uso de dosis altas de G-CSF es si estas podían influir negativamente sobre los pacientes y donantes sanos aumentando la incidencia de efectos adversos.

Como hemos descrito en la introducción de este trabajo, el G-CSF es un fármaco que tiene efectos secundarios asociados, que, aunque generalmente son leves, en ocasiones pueden implicar gravedad.(57)(58)(59)(60)

Por este motivo, era fundamental saber si con estas dosis estábamos aumentando la incidencia de efectos adversos graves. Con respecto a esto, no se informó ningún efecto adverso grado 3 o superior según la terminología CTCAE(101) entre todos los sujetos estudiados en ninguno de los dos grupos (dosis estándar o dosis altas de G-CSF).

Cabe decir también que nuestro estudio presentó importantes limitaciones. Se trata de un estudio observacional y retrospectivo, propenso a sesgos de selección y a la existencia de factores de confusión no medidos.

Otra debilidad destacable del estudio es que, aunque sí que se recogió la incidencia de efectos adversos grado 3 o superior, los efectos adversos de grado 1 y 2 no se registraron activamente y, por lo tanto, no pudimos recopilarlos, con lo que no podemos saber si fueron superiores o no en el grupo de dosis altas de G-CSF.

Tampoco disponemos de información sobre el número de intentos previos de movilización en cada individuo del estudio. Además, hay que tener en cuenta que todos los individuos analizados se movilizaron en hospitales terciarios con una gran experiencia en la movilización de PHSP, por lo que nuestros hallazgos podrían no ser reproducibles en otros entornos. Por otro lado, el número limitado de individuos en el estudio con patologías no hematológicas podría hacer que las conclusiones generales sean parcialmente discutibles, dado que esta población estuvo infrarrepresentada y por lo tanto no permitió concluir la influencia de dosis altas de G-CSF en la movilización de PHSP.

En resumen, podríamos decir que, según los resultados de nuestro estudio, las dosis altas de G-CSF en comparación con las dosis estándar no mejoraron la movilización de células CD34+ en donantes sanos ni en pacientes pero tampoco se correlacionaron con un aumento de efectos adversos graves. Dada la influencia encontrada de la patología subyacente en la movilización de CD34, estudios futuros y enfocados podrían identificar un subgrupo específico de pacientes que podrían beneficiarse de recibir dosis altas de G-CSF. Dada la tendencia en pacientes con enfermedades no hematológicas a una mejor movilización de PHSP con dosis elevadas de G-CSF, sería de gran interés realizar estudios prospectivos focalizados en esta población.

Para la obtención de PHSP hay dos procesos esenciales que hay que considerar: La movilización de PHSP y por otro lado la aféresis de los mismos mediante separadores celulares. Hasta ahora hemos hablado de la parte de movilización. La segunda parte de nuestro trabajo se centró en estudiar métodos para la optimización en la aféresis de PHSP.

Hasta el desarrollo de este trabajo, en nuestro centro se procesaban para cada aféresis de PHSP un estándar de 3 volemias en cada individuo, tanto en pacientes como en donantes sanos, independientemente del objetivo de CD34+/Kg deseado o de la presencia o no de factores de mala movilización en el individuo en el que se iba a realizar la aféresis.

Con este procesamiento fijo de 3 volemias había una incidencia no despreciable de tener que hacer más de un procedimiento de aféresis en cada individuo para poder obtener la cifra deseada de CD34+/Kg: Según nuestros cálculos realizados, un 35% de los donantes alogénicos y un 34% de los pacientes requirieron más de un día de aféresis para obtener el objetivo de CD34+/kg necesario.

Por este motivo surgió la idea de desarrollar una estrategia útil basada en el conocimiento de la CE2 para poder llevar a cabo un cálculo individualizado de las volemias a procesar en cada donante sano o paciente en cada procedimiento de aféresis.

Como hemos comentado en el apartado de introducción, existen dos variantes de la fórmula de la eficiencia CE, CE1 y CE2. La ventaja de CE2 sobre CE1 es que con esta no es necesario conocer la determinación de CD34+ postaféresis circulantes en el individuo.

Para el desarrollo de nuestra fórmula, en primer lugar, llevamos a cabo un estudio retrospectivo que nos permitió calcular las CE2 de los procedimientos de aféresis realizados en un hospital de tercer nivel (Hospital Ramón y Cajal) durante los últimos años. Una vez conocidos los valores de CE2 pudimos estudiar cuáles eran las variables que podían influir en la misma, de tal forma que comprobamos que la CE2 fue significativamente diferentes entre donantes sanos y pacientes y a su vez diferentes dentro del grupo de pacientes en función de diferentes variables:

La CE2 fue significativamente superior en donantes sanos respecto a los pacientes ($53\pm 17\%$ vs $48\pm 15\%$, $p=0.008$). Dentro de los donantes sanos encontramos además diferencias en la CE2 en función del día de la aféresis: La CE2 fue más elevada cuando la aféresis se realizó en el día +4 de la movilización respecto a días sucesivos ($58\pm 15\%$ vs $48\pm 13\%$, $p<0.001$). Dentro del grupo de pacientes también encontramos diferencias en la CE2 en función de la patología de base: La CE2 fue superior en pacientes con MM y LNH que en pacientes con LH ($48\pm 15\%$, $48\pm 15\%$ y $42\pm 13\%$ respectivamente; $p=0,008$). Además, dentro de los pacientes con MM encontramos valores de CE2 significativamente inferiores en MM movilizados con plerixafor respecto aquellos que no habían recibido este fármaco en la movilización ($41\%\pm 17$ vs $50\%\pm 13\%$; $p=0.002$).

Conocer estos valores de CE2 individualizados en función de si los individuos eran pacientes o donantes sanos, en función del día de la movilización, de la patología de base e incluso teniendo en cuenta si habían recibido o no plerixafor en el caso de los MM, fue fundamental para poder desarrollar una fórmula que permitiera calcular el VST a procesar en el separador celular.

Una vez desarrollada esta fórmula la hicimos accesible a través de una página web y la implementamos en los procedimientos de aféresis de manera prospectiva en nuestro centro.

En el pasado se han realizado también otros estudios que han tenido como base el conocimiento de la CE para el cálculo de las volemias a procesar en aféresis. (82)(85)(86)(91)(92) Algunos de estos estudios fueron realizados en donantes sanos, (91)(92) mientras que otros incluyeron también pacientes.(86)(85)

La desventaja respecto a nuestro trabajo de estos estudios realizados previamente es que no individualizaron los valores de CE en función del individuo en el que se fuera a realizar la aféresis. Sin embargo, nuestra fórmula si incluye la posibilidad de ajustar el valor de CE2 para minimizar los posibles errores de cálculos que podemos tener a la hora de calcular las volemias de sangre que tenemos que procesar. El diseño de nuestro estudio nos permitió analizar qué variables afectaban al CE2 y corregir matemáticamente la fórmula en función de

su influencia (enfermedad de base, donante alogénico o autólogo, día de la aféresis y uso de plerixafor).

El objetivo principal de desarrollar e implementar esta fórmula fue el de optimizar las aféresis realizadas en nuestro centro.

La implementación de la fórmula de volemias a procesar en nuestro centro supuso varias mejoras significativas: A pesar de que el uso de la fórmula resultó en un aumento del volumen total de sangre procesado en la mayoría de los grupos de pacientes, como consecuencia se logró reducir el número de aféresis en individuos menores de 60 años, lo que llevó a un menor uso de G-CSF y plerixafor con la consiguiente menor exposición a los efectos adversos de estos fármacos.(102)(103)(104)(105)(106)

Los procedimientos de aféresis realizados con la implementación de la fórmula fueron bien tolerados por los individuos del estudio, tanto los más cortos (2-3 volemias) como los más largos (4 volemias), sin encontrar eventos adversos derivados de la hipocalcemia o hipomagnesemia generada por la infusión de ACD-A durante los procedimientos.

Cabe decir también que los individuos que necesitaron más de 1 día de aféresis para obtener el número objetivo de células CD34+ se pudieron identificar desde el principio con los cálculos de la fórmula. Esto permitió una mejor organización y en la unidad de aféresis.

Todos estos resultados analizados de manera conjunta supusieron una mejor gestión de la unidad de aféresis en términos de recursos y profesionales de la salud.

Por otro lado, para comprobar que la fórmula que habíamos diseñado era precisa a la hora de calcular las células CD34+ que se iban a recolectar procesando un determinado volumen sanguíneo, llevamos a cabo un análisis de la relación entre las células CD34+ obtenidas y las células CD34+ predichas por la fórmula. Para ello utilizamos el coeficiente de correlación de Spearman. Los datos previstos frente a los observados mostraron que el número de células CD34+/kg recogidas tenía un valor r de 0,89 ($p < 0,0001$), lo cual demuestra una fuerte correlación

entre la cantidad predicha por la fórmula de células CD34+ recolectadas y la cantidad real de células CD34+ recolectadas.

Otra de las ventajas fundamentales de nuestro estudio es el hecho de haber desarrollado una fórmula y haberla hecho accesible a través de una página web. Además de la facilidad y accesibilidad que esto supone para el propio centro a la hora de utilizarla, se trata también de una herramienta muy útil que puede ser utilizada en otros centros.

En el hospital Ramón y Cajal, el hecho de haber realizado un cálculo de la CE2 retrospectivo en los individuos en los que se realizaron procedimientos de aféresis en los últimos años fue de gran utilidad para conocer que variables eran las que influían en la CE2 y de esa manera poder realizar mejor los cálculos prospectivos en los siguientes procedimientos.

Consideramos que este trabajo puede servir de ejemplo y como guía para otros centros para realizar cálculos retrospectivos de las CE2 de sus procedimientos y desarrollar así fórmulas de utilidad para los individuos que vayan a realizarse aféresis de PHSP en dichos centros.

La fórmula que nosotros desarrollamos puede servir también para calcular las volemias a procesar en otros centros, pero hay que tener en cuenta las variables que pueden influir en los procedimientos de aféresis, como los separadores celulares utilizados, el personal sanitario que maneja estos, las vías venosas utilizadas para el procedimiento, etc.

Nuestro estudio también tiene algunas limitaciones. En primer lugar, la primera parte del estudio en la que se calcularon las CE2 de procedimientos de aféresis previos es de carácter retrospectivo. Por otro lado, también hubo sesgos de selección en la realización de la parte prospectiva: se excluyeron los individuos que formaron parte de ensayos clínicos en los que el protocolo del ensayo especificaba un número específico de volemias a procesar.

Otra limitación es que todos los procedimientos de aféresis se realizaron con el mismo modelo de separador celular: Spectra Optia. Aunque es un dispositivo con alta eficiencia de recolección, (76)(77)(79)(80)(75)(91) sería útil en el futuro

realizar un estudio similar usando fórmulas de CE2 para volemias a procesar en otros dispositivos y comprobar que estas también son útiles en los mismos.

En resumen, la implementación de una fórmula para calcular las volemias a procesar basada en el conocimiento previo de las CE2 y ajustada por las características del individuo, permitió una estrategia a medida en nuestra unidad de aféresis. Nuestra experiencia demostró una disminución en el número de aféresis necesarias para recolectar un número objetivo de células CD34+/kg. Estos resultados sugieren un beneficio potencial en la disminución del gasto de recursos y beneficios potenciales para los pacientes y donantes sanos que se someten a los procedimientos de aféresis, con un menor uso de medicamentos y menos días de aféresis necesarios, los cuáles deberían confirmarse en futuros estudios prospectivos.

CONCLUSIONES

1. En nuestro estudio, las dosis elevadas de G-CSF no consiguieron una mejora en cuanto a la movilización de PHSP respecto a las dosis estándar en pacientes con enfermedades hematológicas ni en donantes sanos.
2. Las dosis elevadas de G-CSF respecto a las dosis estándar tampoco consiguieron una disminución de la incidencia de malos movilizadores en pacientes con enfermedades hematológicas ni en donantes sanos.
3. Las dosis elevadas de G-CSF mostraron una tendencia a una mejor movilización de PHSP en pacientes con enfermedades no hematológicas, pero esta no pudo ser demostrada estadísticamente debido a una escasa representación en la muestra del estudio de estos pacientes.
4. Sería útil la realización de futuros estudios con una mayor representación de pacientes con enfermedades no hematológicas para evaluar el posible beneficio que puede tener en estos el empleo de dosis elevadas de G-CSF.
5. El uso de dosis altas de G-CSF no supuso un aumento de efectos adversos graves (grado 3 o superior) respecto al uso de dosis estándar.
6. Conocer los valores de CE2 de procedimientos previos puede ser de utilidad para elaborar fórmulas de cálculos de VST en aféresis.
7. El valor de CE2 es diferente en cada individuo. En nuestro estudio comprobamos que las variables que modificaban este valor de manera significativa fueron: ser donante sano o paciente, enfermedad de base, día de la aféresis y uso de plerixafor en la movilización.
8. Desarrollar una fórmula de volemias a procesar basada en el conocimiento de la CE2 e individualizada según las características del individuo permite desarrollar estrategias de aféresis a medida.
9. La implementación de esta fórmula puede permitir optimizar la gestión de recursos y personal en una unidad de aféresis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bladé J, Rosiñol L, Cibeira MT, Rovira M, Carreras E. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma beyond 2010. *Blood*. 2010;115(18):3655–63.
2. Moskowitz AJ, Yahalom J, Kewalramani T, Maragulia JC, Vanak JM, Zelenetz AD, et al. Pretransplantation functional imaging predicts outcome following autologous stem cell transplantation for relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2010;116(23):4934–7.
3. Montoto S, Corradini P, Dreyling M, Ghielmini M, Kimby E, López-Guillermo A, et al. Indications for hematopoietic stem cell transplantation in patients with follicular lymphoma: A consensus project of the EBMT-lymphoma working party. *Haematologica*. 2013;98(7):1014–21.
4. Kyriakou C, Canals C, Sibon D, Cahn JY, Kazmi M, Arcese W, et al. High-dose therapy and autologous stem-cell transplantation in Waldenström macroglobulinemia: The lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(13):2227–32.
5. Hermine O, Hoster E, Walewski J, Bosly A, Stilgenbauer S, Thieblemont C, et al. Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomised, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma N. *The Lancet*. 2016;388(10044):565–75.
6. Schorb E, Fox CP, Fritsch K, Isbell L, Neubauer A, Tzalavras A, et al. High-dose thiotepa-based chemotherapy with autologous stem cell support in elderly patients with primary central nervous system lymphoma: A European retrospective study. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52(8):1113–9.
7. D'Amore F, Relander T, Lauritzsen GF, Jantunen E, Hagberg H, Anderson H, et al. Up-front autologous stem-cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma: NLG-T-01. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30(25):3093–9.
8. Yamaguchi M, Kwong YL, Kim WS, Maeda Y, Hashimoto C, Suh C, et al. Phase II study of SMILE chemotherapy for newly diagnosed stage IV, relapsed, or refractory extranodal Natural Killer (NK)/T-cell lymphoma, nasal type: The NK-cell tumor study group study. *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29(33):4410–6.
9. Snowden JA, Saccardi R, Allez M, Ardizzone S, Arnold R, Cervera R, et al. Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: Updated guidelines of the European group for blood and marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* [Internet]. 2012;47(6):770–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bmt.2011.185>
10. Sullivan KM, Muraro P, Tyndall A. Hematopoietic Cell Transplantation for Autoimmune Disease: Updates from Europe and the United States. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet]. 2010;16(1):S48–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.10.034>

11. Dholaria B, Savani BN, Hamilton BK, Oran B, Liu HD, Tallman MS, et al. Hematopoietic Cell Transplantation in the Treatment of Newly Diagnosed Adult Acute Myeloid Leukemia: An Evidence-Based Review from the American Society of Transplantation and Cellular Therapy. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2020;27:6–20.
12. Arslan S, Pullarkat V, Aldoss I. Indications for Allogeneic HCT in Adults with Acute Lymphoblastic Leukemia in First Complete Remission. *Curr Treat Options Oncol*. 2021;22(7).
13. Duarte RF, Labopin M, Bader P, Basak GW, Bonini C, Chabannon C, et al. Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54(10):1525–52.
14. Montoto S, Corradini P, Dreyling M, Ghielmini M, Kimby E, López-Guillermo A, et al. Indications for hematopoietic stem cell transplantation in patients with follicular lymphoma: A consensus project of the EBMT-lymphoma working party. *Haematologica*. 2013;98(7):1014–21.
15. Kyriakou C, Canals C, Cornelissen JJ, Socié G, Willemze R, Ifrah N, et al. Allogeneic stem-cell transplantation in patients with waldenström macroglobulinemia: Report from the lymphoma working party of the european group for blood and marrow transplantation. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(33):4926–34.
16. Robinson S, Dreger P, Caballero D, Corradini P, Geisler C, Ghielmini M, et al. The EBMT/EMCL consensus project on the role of autologous and allogeneic stem cell transplantation in mantle cell lymphoma. *Leukemia [Internet]*. 2015;29(2):464–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/leu.2014.223>
17. Dreger P, Fenske TS, Montoto S, Pasquini MC, Sureda A, Hamadani M. Cellular Immunotherapy for Refractory Diffuse Large B Cell Lymphoma in the Chimeric Antigen Receptor-Engineered T Cell Era: Still a Role for Allogeneic Transplantation? *Biology of Blood and Marrow Transplantation [Internet]*. 2020;26(4):e77–85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.12.771>
18. Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: One size does not fit all. *Blood*. 2014;124(3):344–53.
19. Siddiq S, Pamphilon D, Brunskill S, Doree C, Hyde C, Stanworth S. Bone marrow harvest versus peripheral stem cell collection for haemopoietic stem cell donation in healthy donors. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2009;(1).
20. Eapen M, Klein JP, Ruggeri A, Spellman S, Lee SJ, Anasetti C, et al. Impact of allele-level HLA matching on outcomes after myeloablative single unit umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Blood [Internet]*. 2014;123(1):133–40. Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/123/1/133/1373233/133.pdf>
21. Ringdén O, Labopin M, Beelen DW, Volin L, Ehninger G, Finke J, et al. Bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation from unrelated donors in adult patients with acute myeloid leukaemia, an Acute Leukaemia Working Party analysis in 2262 patients. *J Intern Med*. 2012;272(5):472–83.

22. Ruggeri A, Labopin M, Bacigalupo A, Gülbas Z, Koc Y, Blaise D, et al. Bone marrow versus mobilized peripheral blood stem cells in haploidentical transplants using posttransplantation cyclophosphamide. *Cancer*. 2018;124(7):1428–37.
23. Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, Theurich S, Skoetz N, Scheid C, et al. Bone marrow versus peripheral blood allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for haematological malignancies in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014;2014(4).
24. Pulsipher MA, Chitphakdithai P, Logan BR, Shaw BE, Wingard JR, Lazarus HM, et al. Acute toxicities of unrelated bone marrow versus peripheral blood stem cell donation: Results of a prospective trial from the National Marrow Donor Program. *Blood*. 2013;121(1):197–206.
25. FernándezFern MA, Klein JP, Haagenson M, Spellman SR, Anasetti C, Noreen H, et al. Multiple mismatches at the low expression HLA loci DP, DQ, and DRB3/4/5 associate with adverse outcomes in hematopoietic stem cell transplantation. 2013; Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/121/22/4603/1366370/4603.pdf>
26. Petersdorf EW, Gooley T, Malkki M, Horowitz M. Clinical significance of donor-recipient HLA matching on survival after myeloablative hematopoietic cell transplantation from unrelated donors. In: *Tissue Antigens*. 2007. p. 25–30.
27. Tiercy JM, Nicoloso G, Passweg J, Schanz U, Seger R, Chalandon Y, et al. The probability of identifying a 10/10 HLA allele-matched unrelated donor is highly predictable. *Bone Marrow Transplant*. 2007 Sep;40(6):515–22.
28. Loren AW, Bunin GR, Boudreau C, Champlin RE, Cnaan A, Horowitz MM, et al. Impact of Donor and Recipient Sex and Parity on Outcomes of HLA-Identical Sibling Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2006 Jul;12(7):758–69.
29. Ljungman P, Brand R, Einsele H, Frassoni F, Niederwieser D, Cordonnier C. Donor CMV serologic status and outcome of CMV-seropositive recipients after unrelated donor stem cell transplantation: An EBMT megafile analysis. *Blood*. 2003 Dec 15;102(13):4255–60.
30. Stiff PJ, Micallef I, Nademanee AP, Stadtmauer EA, Maziarz RT, Bolwell BJ, et al. Transplanted CD34 + Cell Dose Is Associated with Long-Term Platelet Count Recovery following Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplant in Patients with Non-Hodgkin Lymphoma or Multiple Myeloma. *Biology of Blood and Marrow Transplantation [Internet]*. 2011;17(8):1146–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2010.11.021>
31. Pérez-Simón JA, Martín A, Caballero D, Corral M, Nieto MJ, Gonzalez M, et al. Clinical significance of CD34+ cell dose in long-term engraftment following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1999;24(12):1279–83.
32. Carral A, de la Rubia J, Martín G, Martínez J, Sanz G, Jarque I, et al. Factors influencing hematopoietic recovery after autologous blood stem cell transplantation in patients

- with acute myeloblastic leukemia and with non-myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29(10):825–32.
33. Gaziev J, Isgrò A, Marziali M, Daniele N, Gallucci C, Sodani P, et al. Higher CD3+ and CD34+ cell doses in the graft increase the incidence of acute GVHD in children receiving BMT for thalassemia. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47(1):107–14.
 34. Remberger M, Törlén J, Ringdén O, Engström M, Watz E, Uhlin M, et al. Effect of total nucleated and CD34+ cell dose on outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet]. 2015;21(5):889–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2015.01.025>
 35. Carral A, de la Rubia J, Martín G, Martínez J, Sanz G, Jarque I, et al. Factors influencing hematopoietic recovery after autologous blood stem cell transplantation in patients with acute myeloblastic leukemia and with non-myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29(10):825–32.
 36. Stiff PJ, Micallef I, Nademanee AP, Stadtmauer EA, Maziarz RT, Bolwell BJ, et al. Transplanted CD34 + Cell Dose Is Associated with Long-Term Platelet Count Recovery following Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplant in Patients with Non-Hodgkin Lymphoma or Multiple Myeloma. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet]. 2011;17(8):1146–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2010.11.021>
 37. Giralt S, Costa L, Schriber J, DiPersio J, Maziarz R, McCarty J, et al. Optimizing autologous stem cell mobilization strategies to improve patient outcomes: Consensus guidelines and recommendations. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet]. 2014;20(3):295–308. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2013.10.013>
 38. Wicherska-Pawłowska K, Rybka J, Prajs I, Szmigiel K, Tyc J, Frączak E, et al. The comparison of effectiveness and safety between different biosimilars of G-CSF in the mobilization of peripheral blood stem cells (PBSCs) for autologous transplantation (autologous peripheral blood stem cell transplantation, auto-PBSCT). *J Clin Apher*. 2020;35(1):4–8.
 39. Korkmaz S, Altuntas F. What is the role of biosimilar G-CSF agents in hematopoietic stem cell mobilization at present? *Transfusion and Apheresis Science* [Internet]. 2017;56(6):795–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transci.2017.11.008>
 40. Cerchione C, Nappi D, Martinelli G. Pegfilgrastim for primary prophylaxis of febrile neutropenia in multiple myeloma. Vol. 29, *Supportive Care in Cancer*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 6973–80.
 41. Brokx S, Scrocchi L, Shah N, Dowd J. A demonstration of analytical similarity comparing a proposed biosimilar pegfilgrastim and reference pegfilgrastim. *Biologicals*. 2017 Jul 1;48:28–38.
 42. Bueno JL, Alegre A, López-Villar O, Querol S, Arroyo JL, Goterris R, et al. Agreements and uncertainties in autologous haematopoietic stem cell mobilization and collection. A Spanish consensus document. *Bone Marrow Transplant* [Internet]. 2020;55(4):811–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41409-019-0716-9>

43. Gertz MA, Wolf RC, Micallef INM, Gastineau DA. Clinical impact and resource utilization after stem cell mobilization failure in patients with multiple myeloma and lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45(9):1396–403.
44. Bensinger W, DiPersio JF, McCarty JM. Improving stem cell mobilization strategies: Future directions. *Bone Marrow Transplant.* 2009;43(3):181–95.
45. Pusic I, Jiang SY, Landua S, Uy GL, Rettig MP, Cashen AF, et al. Impact of Mobilization and Remobilization Strategies on Achieving Sufficient Stem Cell Yields for Autologous Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2008;14(9):1045–56.
46. Köger N, Renges H, Sonnenberg S, Krüger W, Gutensohn K, Dielschneider T, et al. Stem cell mobilisation with 16 µg/kg vs 10 µg/kg of G-CSF for allogeneic transplantation in healthy donors. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29(9):727–30.
47. Martínez C, Urbano-Ispizua A, Marín P, Merino A, Rovira M, Carreras E, et al. Efficacy and toxicity of a high-dose G-CSF schedule for peripheral blood progenitor cell mobilization in healthy donors. *Bone Marrow Transplant.* 1999;24(12):1273–8.
48. Engelhardt M, Bertz H, Afting M, Waller CF, Finke J. High- versus standard-dose filgrastim (rhG-CSF) for mobilization of peripheral-blood progenitor cells from allogeneic donors and CD34+ immunoselection. *Journal of Clinical Oncology.* 1999;17(7):2160–72.
49. Weaver CH, Birch R, Greco FA, Schwartzberg L, Mcaneny B, Moore M, et al. Mobilization and harvesting of peripheral blood stem cells: Randomized evaluations of different doses of filgrastim. *Br J Haematol.* 1998;100(2):338–47.
50. Halle P, Kanold J, Rapatel C, Boiret N, Berger M, Stephan JL, et al. Granulocyte colony-stimulating factor alone at 20 µg/kg vs. 10 µg/kg for peripheral blood stem cell mobilization in children. *Pediatr Transplant.* 2000;4(4):285–8.
51. Koenigsmann M, Jentsch-Ullrich K, Mohren M, Becker E, Heim M, Franke A. The role of diagnosis in patients failing peripheral blood progenitor cell mobilization. *Transfusion (Paris).* 2004;44(5):777–84.
52. Gazitt Y, Freytes CO, Callander N, Tsai TW, Alsina M, Anderson J, et al. Successful PBSC mobilization with high-dose G-CSF for patients failing a first round of mobilization. *J Hematother.* 1999;8(2):173–83.
53. Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, Houghton S, Layton JE, Boyd AW, et al. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony- stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood [Internet].* 1995;86(12):4437–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.V86.12.4437.bloodjournal86124437>
54. André M, Baudoux E, Bron D, Canon JL, D'Hondt V, Fassotte MF, et al. Phase III randomized study comparing 5 or 10 µg per kg per day of filgrastim for mobilization of peripheral blood progenitor cells with chemotherapy, followed by intensification and autologous transplantation in patients with nonmyeloid malignancies. *Transfusion (Paris).* 2003;43(1):50–7.

55. Vaezi M, Shakouri M, Souri M, Setaredan MA, Mossavi SA, Mohammadi S, et al. The effects of lower CD34 yields after low dose G-CSF induction on long-term autologous stem cell transplantation outcome: A single center study. *Transfusion and Apheresis Science* [Internet]. 2018;57(2):265–71. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.03.007>
56. Samaras P, Rützi MF, Seifert B, Bachmann H, Schanz U, Eisenring M, et al. Mobilization of Hematopoietic Progenitor Cells with Standard- or Reduced-Dose Filgrastim after Vinorelbine in Multiple Myeloma Patients: A Randomized Prospective Single-Center Phase II Study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet]. 2018;24(4):694–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.12.775>
57. CHMP. ANEXO I FICHA TÉCNICA O RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO.
58. Miller JP, Perry EH, Price TH, Bolan CD, Karanes C, Boyd TM, et al. Recovery and Safety Profiles of Marrow and PBSC Donors: Experience of the National Marrow Donor Program. Vol. 14, *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2008. p. 29–36.
59. Pulsipher MA, Chitphakdithai P, Miller JP, Logan BR, King RJ, Rizzo JD, et al. Adverse events among 2408 unrelated donors of peripheral blood stem cells: results of a prospective trial from the National Marrow Donor Program. Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/113/15/3604/1483494/zh801509003604.pdf>
60. Ganetsky A, Kucharczuk C, del Percio S, Frey N, Gill S. Spontaneous subcapsular splenic hematoma associated with filgrastim in a patient undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Annals of Pharmacotherapy*. 2013 May;47(5).
61. Czerw T, Sadius-Wojciechowska M, Michalak K, Najda J, Mendrek W, Sobczyk-Kruszelnicka M, et al. Increased Efficacy of Stem Cell Chemomobilization with Intermediate-Dose Cytarabine Plus Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) Compared with G-CSF Alone in Patients with Multiple Myeloma: Results of a Randomized Trial. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet]. 2019;25(2):248–55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.09.023>
62. Alegre A, Tomás JF, Martínez-Chamorro C, Gil-Fernández JJ, Fernández-Villalta MJ, Arranz R, et al. Comparison of peripheral blood progenitor cell mobilization in patients with multiple myeloma: High-dose cyclophosphamide plus GM-CSF vs G-CSF alone. *Bone Marrow Transplant*. 1997;20(3):211–7.
63. CHMP. ANEXO I FICHA TÉCNICA O RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO.
64. Mohty M, Azar N, Chabannon C, le Gouill S, Karlin L, Farina L, et al. Plerixafor in poor mobilizers with non-Hodgkin's lymphoma: A multi-center time-motion analysis. *Bone Marrow Transplant* [Internet]. 2018;53(3):246–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41409-017-0033-0>
65. Giralt S, Stadtmauer EA, Harousseau JL, Palumbo A, Bensinger W, Comenzo RL, et al. International myeloma working group (IMWG) consensus statement and guidelines regarding the current status of stem cell collection and high-dose therapy for multiple myeloma and the role of plerixafor (AMD 3100). *Leukemia*. 2009;23(10):1904–12.

66. DiPersio JF, Micallef IN, Stiff PJ, Bolwell BJ, Maziarz RT, Jacobsen E, et al. Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for . *Journal of Clinical Oncology*. 2009;27(28):4767–73.
67. DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, Micallef INM, Stiff PJ, Kaufman JL, et al. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2009;113(23):5720–6.
68. Sánchez-Ortega I, Querol S, Encuentra M, Ortega S, Serra A, Sanchez-Villegas JM, et al. Plerixafor in patients with lymphoma and multiple myeloma: Effectiveness in cases with very low circulating CD34+ cell levels and preemptive intervention vs remobilization. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(1):34–9.
69. Sancho JM, Duarte R, Medina L, Querol S, Marín P, Sureda A. Movilización de progenitores hematopoyéticos a sangre periférica con plerixafor en pacientes malos movilizadores. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2016;147(5):223.e1-223.e7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2016.05.019>
70. Wuchter P, Ran D, Bruckner T, Schmitt T, Witzens-Harig M, Neben K, et al. Poor Mobilization of Hematopoietic Stem Cells-Definitions, Incidence, Risk Factors, and Impact on Outcome of Autologous Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet]. 2010;16(4):490–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.11.012>
71. Waterman J, Rybicki L, Bolwell B, Copelan E, Pohlman B, Sweetenham J, et al. Fludarabine as a risk factor for poor stem cell harvest, treatment-related MDS and AML in follicular lymphoma patients after autologous hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47(4):488–93.
72. Paripati H, Stewart AK, Cabou S, Dueck A, Zepeda VJ, Pirooz N, et al. Compromised stem cell mobilization following induction therapy with lenalidomide in myeloma. *Leukemia*. 2008;22(6):1282–4.
73. Malard F, Kröger N, Gabriel IH, Hübel K, Apperley JF, Basak GW, et al. Plerixafor for Autologous Peripheral Blood Stem Cell Mobilization in Patients Previously Treated with Fludarabine or Lenalidomide. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2012;18(2):314–7.
74. Volume TB. Brief Report Calculations in Apheresis. 2015;42(June 2014):38–42.
75. Lee SN, Sohn JY, Kong JH, Eom HS, Lee H, Kong SY. Comparison of two apheresis systems of COBE and Optia for autologous peripheral blood stem cell collection. *Ann Lab Med*. 2017;37(4):327–30.
76. Long G, Waller EK, Gregurek S, Tricot G, Marschner S, Bill J. Evaluation of the Spectra Optia® mononuclear cell collection procedure in multiple myeloma patients. *J Clin Apher*. 2015;30(1):1–7.
77. Karafin MS, Graminske S, Erickson P, Walters MC, Scott EP, Carter S, et al. Evaluation of the spectra optia apheresis system for Mononuclear Cell (MNC) collection in G-CSF

- mobilized and nonmobilized healthy donors: Results of a multicenter study. *J Clin Apher.* 2014;29(5):273–80.
78. Brauninger S, Bialleck H, Thorausch K, Felt T, Seifried E, Bonig H. Allogeneic donor peripheral blood 'stem cell' apheresis: Prospective comparison of two apheresis systems. *Transfusion (Paris)*. 2012;52(5):1137–45.
 79. Flommersfeld S, Bakchoul T, Bein G, Wachtel A, Loechelt C, Sachs UJ. A single center comparison between three different apheresis systems for autologous and allogeneic stem cell collections. *Transfusion and Apheresis Science* [Internet]. 2013;49(3):428–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transci.2013.06.002>
 80. Reinhardt P, Brauninger S, Bialleck H, Thorausch K, Smith R, Schrezenmeier H, et al. Automatic interface-controlled apheresis collection of stem/progenitor cells: Results from an autologous donor validation trial of a novel stem cell apheresis device. *Transfusion (Paris)*. 2011;51(6):1321–30.
 81. Rosenbaum ER, O'Connell B, Cottler-Fox M. Validation of a formula for predicting daily CD34+ cell collection by leukapheresis. *Cytotherapy* [Internet]. 2012;14(4):461–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.3109/14653249.2011.652733>
 82. Cousins AF, Sinclair JE, Alcorn MJ, Green RHA, Douglas KW. HPC-A dose prediction on the optia® cell separator based on a benchmark CE2 collection efficiency: Promoting clinical efficiency, minimizing toxicity, and allowing quality control. *J Clin Apher.* 2015;30(6):321–8.
 83. Cid J, Carbassé G, Cid-Caballero M, López-Púa Y, Alba C, Perea D, et al. The Barcelona Hospital Clínic therapeutic apheresis database. *J Clin Apher.* 2018;33(3):259–64.
 84. Cid J, Carbassé G, Alba C, Perea D, Lozano M. Leukocytapheresis in nonmobilized donors for cellular therapy protocols: Evaluation of factors affecting collection efficiency of cells. *J Clin Apher.* 2019;34(6):672–9.
 85. Leberfinger DL, Badman KL, Roig JM, Loos T. Improved planning of leukapheresis endpoint with customized prediction algorithm: minimizing collection days, volume of blood processed, procedure time, and citrate toxicity. *Transfusion (Paris)*. 2017;57(3):685–93.
 86. Ono Y, Yoshioka S, Inoue K, Yoshida M, Maruoka H, Ishikawa T. Stochastic model based on preharvest peripheral CD34-positive cell count and collection efficiency predicting processed blood volume in peripheral hematopoietic stem cell apheresis. *Transfusion (Paris)*. 2019;59(2):671–80.
 87. Azzouqa AGM, Jouni K, Roy V, Zubair AC. Impact of good and poor mobilizers on hematopoietic progenitor cell collection efficiency and product quality. *J Clin Apher.* 2019;34(1):39–43.
 88. Cid J, Castillo C, Marín P, Carbassé G, Herrera D, Monfort N, et al. Increased collection efficiency of CD34+ cells after mobilization with preemptive use of plerixafor followed by leukocytapheresis on the same day. *Transfusion (Paris)*. 2020;60(4):779–85.

89. Verlinden A, van de Velde A, Verpooten GA, Janssen Van Doorn K. Determining factors predictive of CD34+ cell collection efficiency in an effort to avoid extended and repeated apheresis sessions. *J Clin Apher.* 2013;28(6):404–10.
90. Ford CD, Pace N, Lehman C. Factors affecting the efficiency of collection of CD34-positive peripheral blood cells by a blood cell separator. *Transfusion (Paris).* 1998;38(11–12):1046–50.
91. Godbey EA, Dormesy S, Gowda L, Nandi V, Paradiso S, Sachais BS, et al. A dual strategy to optimize hematopoietic progenitor cell collections: validation of a simple prediction algorithm and use of collect flow rates guided by mononuclear cell count. *Transfusion (Paris).* 2019;59(2):659–70.
92. Almeida-Neto C de, Rocha V, Moreira FR, Hamasaki DT, Farias MC de, Arrifano AM, et al. Validation of a formula predictive of peripheral blood stem cell yield and successful collection in healthy allogeneic donors. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2020;42(2):164-165.e5.
93. Vasu S, Leitman SF, Tisdale JF, Hsieh MM, Childs RW, Barrett AJ, et al. Donor demographic and laboratory predictors of allogeneic peripheral blood stem cell mobilization in an ethnically diverse population. *Blood.* 2008;112(5):2092–100.
94. Mohty M, Hübel K, Kröger N, Aljurf M, Apperley J, Basak GW, et al. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: A position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Vol. 49, *Bone Marrow Transplantation.* Nature Publishing Group; 2014. p. 865–72.
95. Olivieri A, Marchetti M, Lemoli R, Tarella C, Iacone A, Lanza F, et al. Proposed definition of ‘poor mobilizer’ in lymphoma and multiple myeloma: An analytic hierarchy process by ad hoc working group Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo. *Bone Marrow Transplant.* 2012 Mar;47(3):342–51.
96. Wuchter P, Ran D, Bruckner T, Schmitt T, Witzens-Harig M, Neben K, et al. Poor Mobilization of Hematopoietic Stem Cells-Definitions, Incidence, Risk Factors, and Impact on Outcome of Autologous Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2010 Apr;16(4):490–9.
97. Stockerl-Goldstein KE, Reddy SA, Horning SJ, Blume KG, Chao NJ, Hu WW, et al. Favorable Treatment Outcome in Non-Hodgkin’s Lymphoma Patients with ‘Poor’ Mobilization of Peripheral Blood Progenitor Cells. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2000;6(5):506–12.
98. Duong HK, Savani BN, Copelan E, Devine S, Costa LJ, Wingard JR, et al. Peripheral blood progenitor cell mobilization for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [Internet]. 2014;20(9):1262–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.05.003>
99. Dale DC, Crawford J, Klippel Z, Reiner M, Osslund T, Fan E, et al. A systematic literature review of the efficacy, effectiveness, and safety of filgrastim. *Supportive Care in Cancer.* 2018;26(1):7–20.

100. Sheridan WP, Fox RM, Begley CG, Maher D, McGrath KM, Begley CG, et al. Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilised by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *The Lancet*. 1992;339(8794):640–4.
101. Cancer Institute N. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v5.0 [Internet]. 2017. Available from: <https://www.meddra.org/>
102. Kango G, Haroun F. Filgrastim induced thrombocytopenia. *BMJ Case Rep*. 2020;13(6):1–4.
103. Kobayashi T, Kamada I, Komura J, Toyoshima S, Ishii-Watabe A. Comparative study of the number of report and time-to-onset of the reported adverse event between the biosimilars and the originator of filgrastim. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2017;26(8):917–24.
104. Kessans MR, Gatesman ML, Kockler DR. Plerixafor: A peripheral blood stem cell mobilizer. *Pharmacotherapy*. 2010;30(5):485–92.
105. Niinomi I, Hosohata K, Oyama S, Inada A, Wakabayashi T, Iwanaga K. Evaluation of adverse events associated with filgrastim originator and biosimilar using a spontaneous reporting system database. *Pharmazie*. 2020;75(4):151–3.
106. Bilgin YM. Use of plerixafor for stem cell mobilization in the setting of autologous and allogeneic stem cell transplantations: An update. *J Blood Med*. 2021;12:403–12.