

CÁPSULAS EN MEDICINA DE LABORATORIO

www.traineecouncil.org

TÍTULO: Recolección de células madre de sangre periférica

PONENTE: Laura S. Connelly-Smith

Diapositiva 1:

Hola, mi nombre es Laura Connelly-Smith. Soy Profesora Asistente de Hematología y Directora Médica Asistente de Aféresis y Terapia Celular en el Centro Médico de la Universidad de Washington y de la Alianza del Cuidado para el Cáncer de Seattle. Bienvenidos a esta Capsula en Medicina de Laboratorio sobre la **“Recolección de células madre de sangre periférica.”**

Diapositiva 2:

El objetivo de la recolección de células madre de sangre periférica (CMSP) es la adquisición de células madre o progenitoras hematopoyéticas con el propósito de un trasplante. Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) son responsables de la formación de células sanguíneas. Esta presentación cubrirá el por qué, cómo y cuándo se realizan las recolecciones de células madre en sangre periférica.

Diapositiva 3:

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) es una estrategia de tratamiento ampliamente aceptada para la mayoría de las neoplasias malignas hematológicas y para varias neoplasias malignas no hematológicas y enfermedades no malignas. En varias condiciones, el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) se reconoce como el estándar de atención con evidencia clínica bien definida disponible como ensayos clínicos de alta calidad y/o estudios observacionales. El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) incluye el trasplante autólogo y alogénico TCPH.

Diapositiva 4:

En el trasplante autólogo, la reinfusión de las propias células madre del paciente permite la recuperación oportuna de la médula ósea (MO) tras la administración de una terapia de dosis alta. La quimioterapia puede asociarse con una toxicidad significativa, pero los regímenes de tratamiento no incluyen la inmunosupresión. El objetivo del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es reemplazar una médula ósea enferma o que no funciona con una médula ósea normal de un donante familiar o no familiar sano, de modo que

los pacientes adquieran un "nuevo sistema inmunológico". Los pacientes reciben acondicionamiento con quimioterapia y/o radioterapia y los regímenes incluyen la inmunosupresión para prevenir el rechazo del nuevo injerto, así como para prevenir la enfermedad de injerto contra huésped (EICH). En el trasplante alogénico, el donante sano se somete a la recolección de células progenitoras hematopoyéticas.

Diapositiva 5:

El antígeno CD34 es una molécula clínicamente importante expresada en la superficie y sirve como marcador en la población celular que contiene células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) son un subconjunto de las células CD34 positivas (+). En el estado estacionario, las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) CD34 positivas (+) son raras en la circulación periférica y constituyen el 0.1% de las células mononucleares circulantes. Su número es de 10 a 100 veces mayor en la médula ósea. Estudios confirman que las células CD34 positivas (+) se movilizan hacia la sangre periférica (SP) y cuando se recolectan para trasplante, son similares a las células derivadas de la médula ósea en su capacidad para reconstituir completamente la hematopoyesis después del acondicionamiento mieloablativo. No se ha identificado un umbral mínimo de células progenitoras hematopoyéticas para trasplante, aunque una concentración de 2×10^6 de células CD34 positivas (+) por kilogramo (kg), generalmente se acepta como el objetivo mínimo. Con dosis más bajas, existe un mayor riesgo de injerto retrasado o fallido. Varios estudios han demostrado que dosis más altas de infusiones de células CD34 positivas (+) se asocian con un injerto más rápidamente. Existe cierta preocupación en el trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) ya que dosis suficientemente más altas pueden estar asociadas con la enfermedad de injerto contra huésped (EICH). Una dosis objetivo de células CD34 positivas (+) entre 4 y 5×10^6 células CD34 positivas (+) por kg se considera ideal según los datos disponibles.

Diapositiva 6:

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se pueden recolectar por diferentes métodos. La aféresis es la técnica mediante la cual una máquina extrae células de la sangre. Después de la movilización, el individuo se conecta a la máquina de aféresis mediante un cateterismo periférico o central donde la sangre extraída del cuerpo se separa por centrifugación y la capa leucocitaria que contiene las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se extrae mientras que el resto de la sangre se devuelve al paciente. La extracción de médula ósea (MO) implica múltiples aspiraciones de las crestas ilíacas superiores posteriores, por lo general en el entorno de un quirófano. Se puede eliminar un total de hasta 20 mL/kg de peso del donante. La extracción de sangre del cordón umbilical se realiza por gravedad usando un sistema de bolsa después del parto a término a través de una punción de la vena umbilical con la placenta adentro o fuera del útero. La fuente preferida de las células progenitoras depende de la disponibilidad del donante, el tratamiento o el protocolo del ensayo clínico y la preferencia del paciente.

Diapositiva 7:

Entonces, ¿cuáles son las diferencias entre las recolecciones de sangre periférica (SP) y médula ósea (MO)? Los ensayos aleatorios de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) de sangre periférica (SP) movilizada se han traducido en una menor duración de las

citopenias, una mayor reconstitución inmunitaria con una reducción de las complicaciones infecciosas y una reducción general de la morbilidad después del trasplante. Las personas pueden requerir acceso venoso central o pueden desarrollar efectos secundarios del factor de crecimiento, quimioterapia o anticoagulación utilizados durante el procedimiento de aféresis. Los linfocitos T (células CD3 positivas+) se encuentran en concentraciones mayores en una recolección de sangre periférica (SP) movilizada que se asocia con un mayor riesgo de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH) crónica. Aquí Bensinger y colaboradores compararon el contenido celular de sangre periférica (SP) movilizada con la médula ósea (MO) de donantes emparentados por kilogramo de peso del receptor. La tabla muestra que los injertos de sangre periférica contienen aproximadamente 3 y 12 veces el número de células CD34 positivas (+) y células T CD3 positivas (+), respectivamente, que estaban presentes en los injertos de médula ósea (MO). La mayoría de los donantes de MO requieren anestesia general o espinal. En la recolección de MO, el dolor es común durante la recuperación y puede estar presente para la mayoría de los donantes durante 1-2 semanas.

Diapositiva 8:

La recolección de células madre en sangre periférica (SP) es ahora la fuente principal de células madre para el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH). El reporte de actividad de trasplantes del Centro para la Investigación Internacional de Trasplantes de Sangre y Médula Ósea que cubre el período 2010-2014, reveló una diferencia de casi 10 veces en la sangre periférica (SP) como fuente de células progenitoras frente a la médula ósea (MO), observándose la principal diferencia en el trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas. La recuperación de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) adecuadas de sangre periférica (SP) incluye procedimientos de movilización efectivos y técnicas de aféresis eficientes.

Diapositiva 9:

Los agentes utilizados para movilizar las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) antes de la recolección incluyen la quimioterapia en pacientes con malignidad y donde un tratamiento citorreductor es requerido. Durante la fase de recuperación y después de la aplasia medular inducida por quimioterapia, las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) aumentan de 20 a 25 veces. En este caso, la movilización se mejora mediante la administración de una citocina recombinante posterior al tratamiento. Otros pacientes y todos los donantes alogénicos se movilizan solo después de la citocina. Las citocinas más utilizadas son el factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF humano recombinante o filgrastim. Otra forma del factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF recombinante (lenograstim) no está disponible en los Estados Unidos, pero se usa para la movilización de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) en Europa. El factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos GM-CSF (sargramostim) rara vez se usa para la movilización hoy en día, pero sigue estando disponible como una opción. Durante la última década, se ha indicado un fármaco más novedoso, Plerixafor (Mozobil), para pacientes que no son buenos movilizadores o que anteriormente no han movilizad.

Diapositiva 10:

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) residen dentro de la médula ósea debido a interacciones citoadhesivas entre receptores de membrana y ligandos expresados en células estromales microambientales. Las células estromales producen el factor-1 alfa derivado de las células madre de quimiocinas (SDF-1 α), una importante molécula de señalización involucrada en la proliferación, localización e injerto de células madre. Es la pérdida de unión a las células estromales, junto con la pérdida de actividad del factor-1 alfa derivado de las células madre de quimiocinas (SDF-1 α) lo que favorece la liberación de células madre a la circulación. El factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF disminuye la expresión del gen del factor 1 alfa derivado de células estromales (SDF-1 α) y los niveles de proteína mientras aumenta las metaloproteasas de la matriz al incrementar el número de neutrófilos. Esto puede escindir las interacciones entre las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) y el entorno de la médula ósea. Durante un tiempo determinado en su desarrollo, las células madre expresan el receptor de quimiocinas CXCR4 que es responsable de anclar las células madre al microambiente de la médula ósea y unirse al factor 1 alfa derivado de células estromales (SDF-1 α). El bloqueo de este receptor con un antagonista de quimiocinas denominado Plerixafor, aumenta las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) circulantes.

Diapositiva 11:

Esta imagen muestra un ejemplo de un procedimiento típico de movilización y recolección de citocinas. El factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF se administra con mayor frecuencia en dosis de 10 mcg/kg/día. Aún existen datos limitados que respalden dosis más altas. La aféresis suele iniciarse entre 96 y 120 horas después del inicio de la administración del factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF. Para los movilizadores pobres o los pacientes con fallas de movilización previas, Plerixafor puede agregarse 9-12 horas antes de la recolección de células progenitoras hematopoyéticas (CPH). En comparación, la recuperación hematopoyética y el día de máxima movilización de células CD34 positivas (+) después de la quimioterapia mielosupresora, generalmente no son predecibles. Por lo tanto, se siguen los parámetros del recuento de células sanguíneas, incluido el recuento de células de sangre periférica CD34 positivas (+), para determinar el momento óptimo para iniciar la aféresis.

Diapositiva 12:

Los efectos secundarios del factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF ocurren con frecuencia, pero generalmente son leves, transitorios y dependen de la dosis y el horario. Aproximadamente el 40-95% de los donantes de aféresis experimentan dolor óseo y musculoesquelético que normalmente disminuye después de suspender el factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF. La fatiga, el dolor de cabeza y las náuseas también son efectos secundarios comunes. La esplenomegalia transitoria leve ocurre después de 5 días del factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF en la mayoría de los donantes y probablemente contribuye a la trombocitopenia leve. Las complicaciones raras incluyen esplenomegalia marcada y rotura esplénica, trombocitopenia grave y hemorragia intensa.

Diapositiva 13:

Eventos adversos adicionales con Plerixafor pueden incluir trastornos gastrointestinales y reacciones en el sitio de la inyección. Estudios previos de fase 3 aleatorizados demostraron una

mayor proporción de pacientes con mieloma múltiple que alcanzaron un objetivo de 6×10^6 células CD34 positivas (+) por kg con Plerixafor y el factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF en comparación con los pacientes movilizados con solo el factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF. La mediana del número de días para alcanzar $\geq 6 \times 10^6$ células CD34 positivas (+) por kg fue de un día para el grupo de Plerixafor y de cuatro días para el grupo de placebo. En otro ensayo clínico aleatorizado (ECA) de fase 3, un mayor porcentaje de pacientes con linfoma no Hodgkin (LNH) logró alcanzar 5×10^6 células CD34 positivas (+) por kg con Plerixafor y el factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF en comparación con los pacientes movilizados con solo el factor estimulador de colonias de granulocitos G-CSF. El costo es un factor limitante para el uso de Plerixafor y la razón por la que muchos centros lo utilizan solo en movilizados pobres o como terapia de rescate.

Diapositiva 14:

Para la recolección, hay varias máquinas de aféresis actualmente en el mercado. Los donantes están conectados a separadores de células sanguíneas por aféresis. Primero se extrae sangre completa en la máquina de aféresis a la que generalmente se agregan anticoagulantes, citrato y/o heparina. Luego, la sangre se separa por centrifugación que utiliza diferencias en la gravedad específica (densidad) para separar las células. Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se encuentran en la capa de células mononucleares (CMN) y se eliminan mediante canales o puertos de recolección durante todo el procedimiento, ya sea en ciclos o continuamente, y los componentes sanguíneos restantes se devuelven al individuo. Cada sesión de aféresis dura aproximadamente de 2 a 6 horas durante las cuales se procesa de 3 a 6 veces el volumen sanguíneo total del individuo. Las recolecciones pueden ocurrir diariamente o hasta que se alcance el número objetivo de células CD34 positivas (+).

Diapositiva 15:

Los eventos adversos relacionados con el procedimiento de aféresis incluyen principalmente dolor y complicaciones por acceso venoso, hipotensión e hipocalcemia por toxicidad al citrato (anticoagulante). Las complicaciones relacionadas con el citrato incluyen parestesias, mareos y náuseas. Un estudio prospectivo de 2408 donantes del Programa Nacional de Donantes de Médula (del inglés *National Marrow Donor Program* -NMDP) mostró que el 51% de los donantes tenían evidencia de toxicidad por citrato. Las reacciones de citrato se pueden controlar simplemente haciendo el proceso de aféresis más lento o disminuyendo la velocidad de infusión de citrato. En algunos donantes se ha requerido la infusión de calcio suplementario. Los eventos adversos agudos graves fueron poco comunes y ocurren en menos del 1% de los donantes durante las recolecciones de aféresis.

Diapositiva 16:

Yu y colaboradores han demostrado una correlación positiva para el número de células de sangre periférica (SP) CD34 positivas (+) movilizadas circulantes justo antes de la recolección, con el contenido final de células CD34 positivas (+) en la bolsa de recolección. Esta correlación depende de la eficiencia de recolección (ER) del procedimiento. La eficiencia de recolección es el porcentaje de células que se extraen del circuito (en la bolsa de recolección) en comparación con las células que pasan por el circuito de aféresis. Los factores que pueden influir en la eficiencia de recolección (ER) incluyen cualquier interrupción de la recolección, como múltiples alarmas de

la máquina, problemas de acceso o retorno venoso, la capacidad del donante para tolerar el procedimiento y la experiencia del técnico de aféresis. Hoy en día es común cuantificar las células de sangre periférica (SP) CD34 positivas (+) circulantes por uL de sangre antes de la aféresis como un medio para determinar si un donante se ha movilizado lo suficientemente bien y para maximizar las recolecciones basadas en estos valores utilizando fórmulas predictivas.

Diapositiva 17:

Se han desarrollado y validado algoritmos predictivos. Estos permiten que los centros de recolección determinen qué es lo que realmente esperan recolectar en un día determinado. Aquí, las células CD34 positivas (+) previstas por litro de sangre procesada, se pueden calcular utilizando el recuento de células de sangre periférica (SP) CD34 positivas (+) justo antes de la aféresis, el peso del receptor y la eficiencia de la recolección. Con la extrapolación, el algoritmo se puede utilizar para determinar el volumen de sangre total que debe procesarse para obtener un recuento de células CD34 positivas (+) objetivo por kg de peso del receptor. La eficiencia de recolección (ER) dada es del 30% en este ejemplo. Estos algoritmos se han convertido en una práctica estándar en muchos centros de todo el mundo. Su uso permite una reducción en el tiempo total de aféresis con una mayor seguridad del donante y del paciente y permite que el centro de aféresis proyecte los rendimientos celulares esperados y programe los procedimientos en consecuencia.

Diapositiva 18: Referencias

1. Majhail NS, Farnia SH, Carpenter PA et al. Indications for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:1863-9.
2. Duong HK, Savani BN, Copelan E 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.
3. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral- blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med* 2001;344:175-81.
4. https://bloodcell.transplant.hrsa.gov/research/transplant_data/transplant_activity_report/index.html Accessed 20 August 2017.
5. Kronenwett R, Martin S, Haas R. The role of cytokines and adhesion molecules for mobilization of peripheral blood stem cells. *Stem Cells* 2000;18:320-30. Review,
6. Connelly-Smith L, Linenberger M. Chapter 28; 306-336. "Collection of Cellular Therapy Products by Apheresis". *Cellular Therapy: Principles, Methods and Regulations*. 2nd Edition AABB.
7. DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A 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; 113:5720-26.
8. DiPersio JF, Micallef IN, Stiff PJ 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 patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2009;27:4767-73.

Cápsulas en Medicina de Laboratorio

Recolección de células madre de sangre periférica

9. Pulsipher MA, Chitphakdithai P, Logan BR 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

10. Yu J, Leisenring W, Bensinger WI et al. The predictive value of white cell or CD34+ cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion* 1999;39:442–450.

Diapositiva 19: Disclosures

Nada que declarar.

Diapositiva 20: Gracias en nombre de www.TraineeCouncil.org

Gracias por acompañarme en esta Cápsula en Medicina de Laboratorio sobre “**Recolección de células madre en sangre periférica.**” Soy Laura Connelly-Smith.