



INTRODUCCION AL TRANSPLANTE DE CELULAS PROGENITORAS (STEM CELLS) HEMATOPOYETICAS (CPH)

DR. MILTON LARRONDO LILLO

Profesor Asociado de Medicina

Universidad de Chile

miltonlarrondo@gmail.com

mlarrondo@hcuch.cl

III Jornada de Medicina Transfusional. Aysén 2018





INTRODUCCIÓN

- 📌 **LAS CELULAS MADRES HEMATOPOYETICAS (PROGENITORAS) SE DIVIDEN, AUTORENUEVAN Y DIFERENCIAN A TODAS LAS LINEAS CELULARES SANGUINEAS.**
- 📌 **SI UNO LOGRA EXTRAERLAS EN NUMERO SUFICIENTE Y MANTENER SU VIABILIDAD POSIBILITAN LOS TRASPLANTES HEMATOPOYETICOS.**
- 📌 **LA DEMOSTRACION QUE ESTAS CPH CIRCULANTES PODIAN “TRANSPLANTARSE” FUE DEMOSTRADO EN RATAS POR BRECHER Y CRONKITE EL AÑO 1951.**
- 📌 **HOY EL TRANSPLANTE CON CPH ES UN PROCEDIMIENTO MEDICO UTILIZADO EN MUCHOS CENTROS DE ATENCION TERCIARIA.**





- El **trasplante** de progenitores hematopoyético se puede clasificar, según el tipo de donante, en
- - **Autólogo** (las CPH son obtenidas del propio paciente),
- - **Singénico** (las CPH son obtenidas de un gemelo univitelino idéntico al paciente),
- - **Alogénico** (procedentes de un individuo distinto a un gemelo del paciente), bien sea **emparentado** (donante familiar del receptor) o **no emparentado** (donante no familiar del receptor)





- **La Obtención** de las CPH, se puede realizar a partir de :
- - Médula ósea
- - Sangre periférica
- - Cordón umbilical



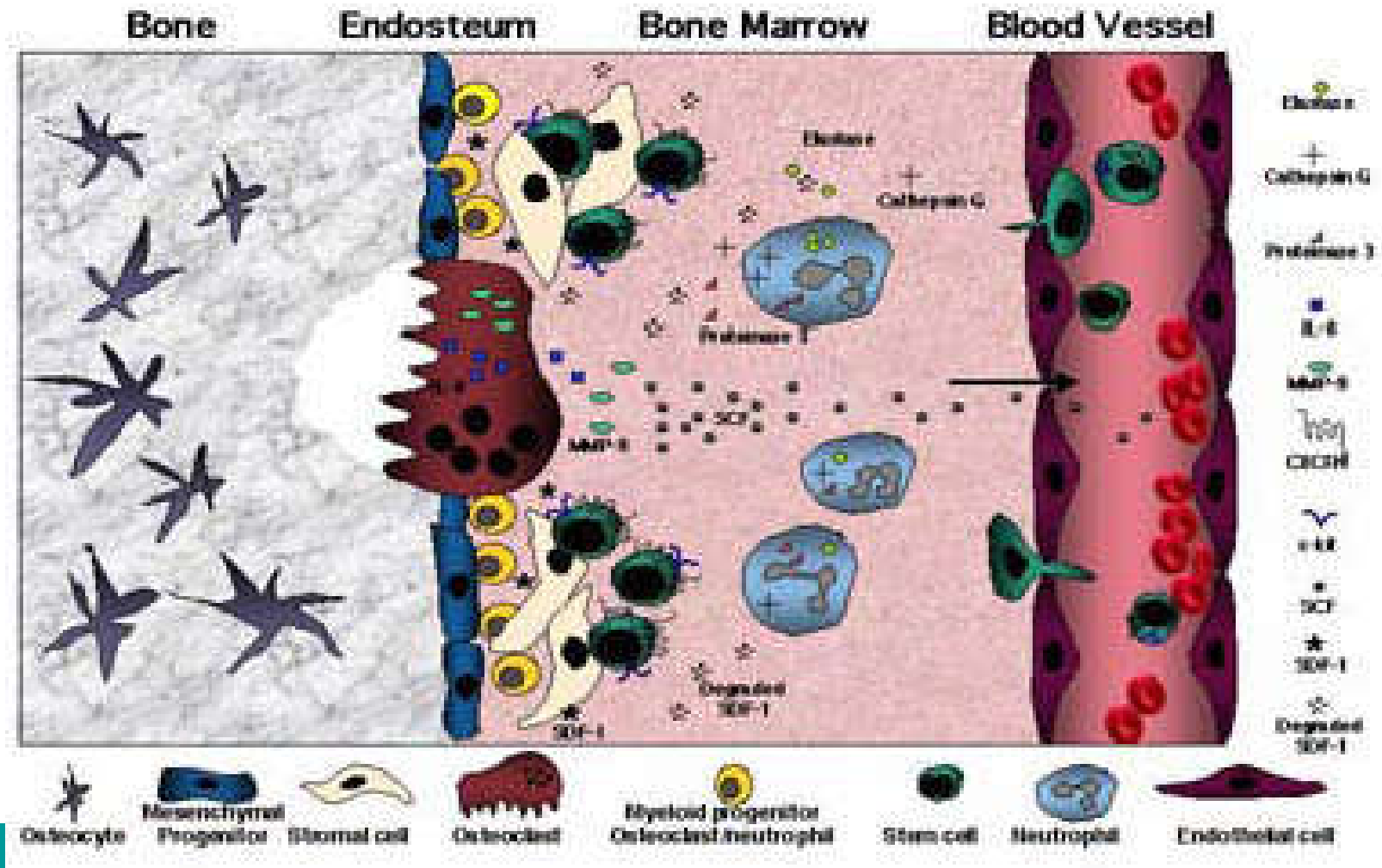


Médula Osea.





Sangre Periférica





Maquinas de Aféresis. (Separadores celulares)





OBJETIVOS.

- **SUSTITUIR HEMATOPOYESIS DEFECTUOSA EN UN PACIENTE.**
- **PERMITIR TRATAMIENTO ANTINEOPLASICO EN DOSIS MUY ELEVADAS (MIELOABLATIVAS).**





Tipos de Trasplante de CPH



EL AUTOLOGO EN REALIDAD ES EL RESCATE CON LAS PROPIAS CPH DEL PACIENTE DESPUES DE UNA DOSIS MIELOABLATIVA DE QUIMIOTERAPIA PARA TRATAR NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS O TUMORES SOLIDOS METASTASICOS.



EL ALOGENICO INVOLUCRA LA INFUSION DE CPH DE OTRA PERSONA, HABITUALMENTE FAMILIARES HLA COMPATIBLES.

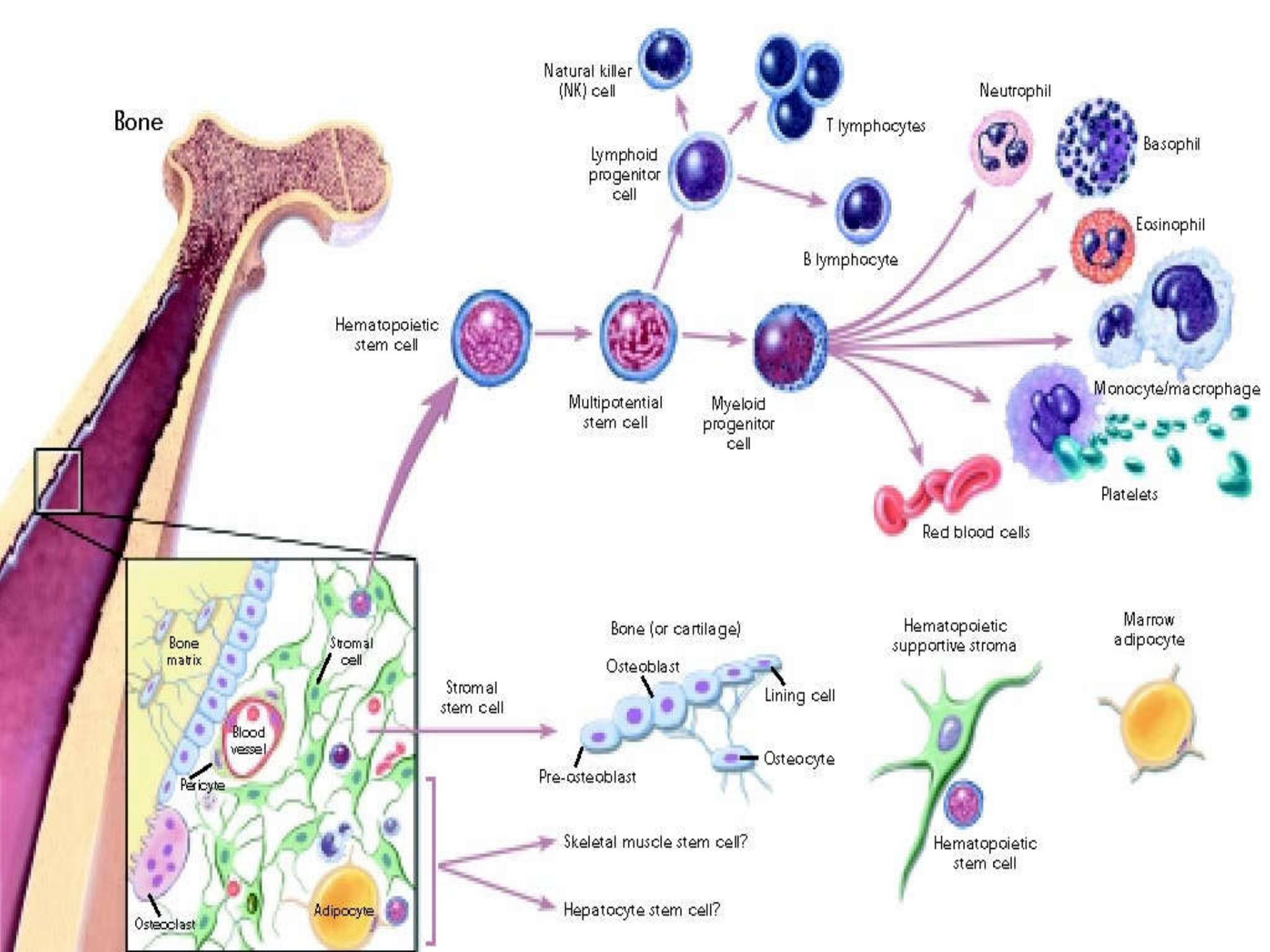




Criterios inclusión donante de PH. Alotrasplante.

- Criterios clínicos y de laboratorio habituales de elección de donantes de Sangre. Hemograma normal. Tamizaje normal.
- Hermano(a) del paciente HLA idéntico en A, B, DR.
- Edad superior a 18 años e inferior a 70 años. (Menor de edad requiere consentimiento de padres y presentación de caso a comité de ética.
- Evaluación médica para los mayores de 55 años. Estudio general + ECG.
- Donante mujer en edad fértil: Test de embarazo negativo, tratamiento anticonceptivo eficaz ausencia de lactancia.
- Ausencia de contraindicación legal de donar sangre, fuera de los criterios de limitación.
- Consentimiento del donante escrito firmado.
- Ausencia de contraindicación de factor estimulador de colonias.







INDICACIONES DE TRANSPLANTE CON CPH.

- Leucemias agudas:
- Mieloides
- Linfoblasticas
- Leucemias cronicas
- Mieloide
- Linfatica
- **Linfomas No Hodgkin**
- Enfermedad de Hodgkin





INDICACIONES DE TRANSPLANTE CON CPH.

- Mieloma múltiple
- Aplasia medular severa
- Tumores solidos
- Enfermedades autoinmunes
- Enfermedades congenitas del sistema hematopoyetico
- Amiloidosis
- Histiocitosis





ETAPAS DE TRANSPLANTE

- **Acondicionamiento** Es la administración de quimioterapia y/o radioterapia en altas dosis con el objetivo de:
 - a) Eliminar las células tumorales.
 - b) Permitir el prendimiento, evitando el rechazo del injerto en los alo trasplantes.
 - c) Facilitar el efecto injerto contra tumor (alo-trasplante)





- **Obtención de los PH.**

Procedimiento para obtener los PH, ya sea de medula osea, sangre periférica o cordón. Se criopreservan previo al acondicionamiento y están disponibles para el receptor en una cantidad suficiente para el prendimiento.





- **Manipulación del Injerto.**

Procedimiento orientado a eliminar células tumorales ex vivo, eliminar linfocitos T, disminuir GR en caso de incompatibilidad de grupo sanguíneo clásico o disminuir los volúmenes que se van a criopreservar. Es optativo según cada caso particular.





- **Infusión de PH.**

Los PH son descongelados e infundidos al paciente. Se realiza con un baño termorregulado a 37 °C y constituye el día 0 del TPH.





- **Aplasia post trasplante.**

Periodo post infusión en que el paciente se encuentra aplásico, sin producir elementos figurados. Como cursa con agranulocitosis prolongada, requiere de cuidados en unidades especializadas para su soporte.





- **Recuperación hematológica.**
- A partir del día +10 a +14 post infusión (post-trasplante) aparecen los primeros leucocitos, reticulocitos y plaquetas propias del paciente: PRENDIMIENTO.





- **Recuperación inmune.**

Periodo aproximado de 6 meses post trasplante, en que demora en recuperarse las subpoblaciones de linfocitos.





CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS por AFERESIS.

- **LA RECOLECCION REQUIERE LA MOVILIZACION DE ESTAS CP DESDE LA MEDULA A LA CIRCULACION.**
- **SE UTILIZAN DROGAS : QUIMIOTERAPIA (CICLOFOSFAMIDA) Y/O FACTORES ESTIMULANTES DE COLONIAS (G-CSF).**
- **LUEGO DE MOVILIZADAS SE OBTIENEN POR LEUCOAFERESIS. ESTE PROCEDIMIENTO TIENE LA VENTAJA DE SER MENOS INVASOR, NO REQUIERE DE PABELLON Y ANESTESIA COMO SI LO REQUERIA EN EL PASADO EXTRAER MEDULA.**
- **LO HABITUAL SI EL PACIENTE MOVILIZA UNA CANTIDAD SUFICIENTE ES QUE SE NECESITEN 1 o 2 PROCEDIMIENTOS DE LEUCOFERESIS.**





FACTORES QUE INFLUYEN EN MOVILIZACION

- TECNICA DE MOVILIZACION
 - Quimioterapia sola / + G-CSF - dosis.
- EXPOSICION PREVIA A QUIMIOTERAPIA
- EDAD DEL PACIENTE





TECNICA DE MOVILIZACION

- **METODO** **INCREMENTO EN UFC-GM**

QUIMIO SOLA **20 A 50 veces**

G-CSF SOLO **20 A 50 veces**

quimio + G-CSF **70 veces (rango, 25 a 250)**





CUANDO RECOLECTAR LAS CPHP.

- **EN GENERAL ESTA DEFINIDO POR EL ESQUEMA DE MOVILIZACION UTILIZADO.**
- **CARACTERISTICAS CLINICAS DEL PACIENTE**
- **SE OBJETIVA CUANTIFICANDO LOS NIVELES DE CPH PREVIO A LA LEUCOFERESIS. SE CUANTIFICA POBLACION CD34 + POR CITOMETRIA.**

EN GENERAL, SE RECOLECTAN PACIENTES CON NIVEL MINIMO DE 10.000 CD34/ ml. (10 cel/ul).

LO HABITUAL RECOMENDADO > 20 cel/ul.





CUANDO RECOLECTAR LAS CPHP.

- G-CSF: realizar leucoaféresis al **día +5**.
- G-CSF + QMT: **CD34 en SP >20 cel/ul** o recuento desconocido con GB > 5.000 mm³ y plaquetas > 75.000 mm³.
 - Recuentos >20 cel/ul aumenta la probabilidad de llegar a una dosis de progenitores adecuada para transplante.





Factores de Riesgo

Table 3 Main factors that may negatively affect successful HSPC harvest

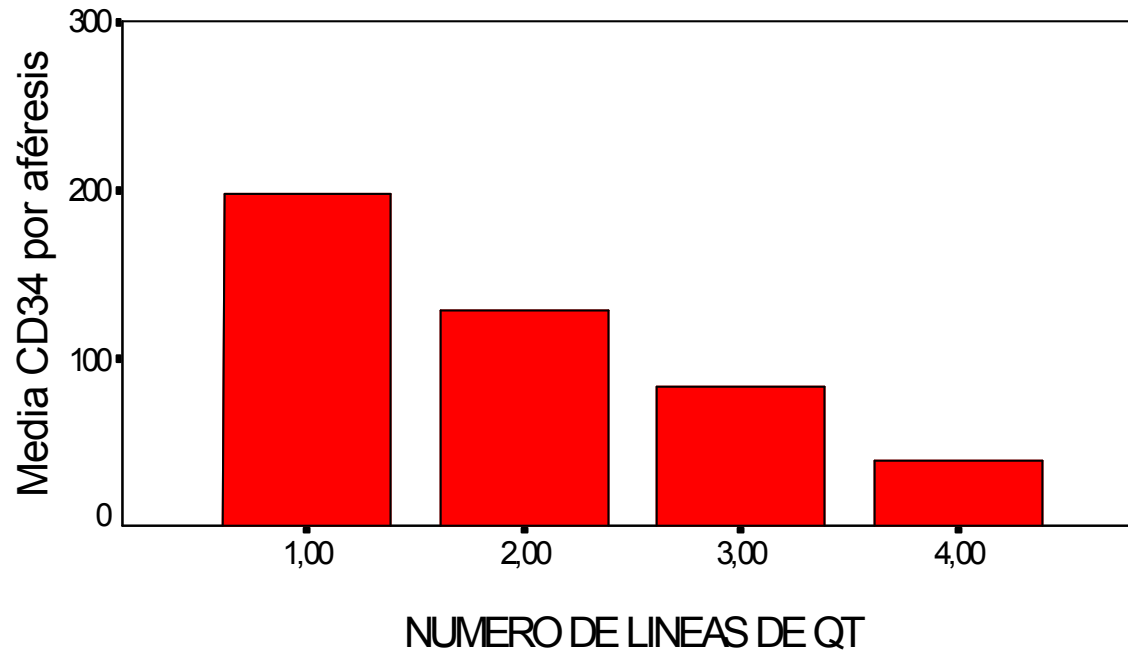
Factor		Reference
Edad Mayor	Older age was the cutoff	Lacativa et al ⁶¹
	70 years has been described as another cutoff	
Diagnóstico	Diagnosis of multiple myeloma and AML were alternatively	Mendrone et al ⁵⁹
	Prior irradiation	Benigsmann et al ⁶⁰
	Bone marrow involvement	Bensinger et al ⁵⁶
Radioterapia previa	Presence and importance of involvement	et al ⁴⁸
	Stage of disease	et al ⁵⁷
	Number of chemotherapy regimens	et al ⁵⁶
	Factor also described as chemotherapy load	Ketterer et al ⁵⁸
Compromiso MO	Alkylating agents	et al ⁵⁹
	Platelet baseline count	Mendrone et al ⁵⁹
	Cutoff: 150,000–161,000 platelets/ μ L	Lacativa et al ⁶¹
Estadio de la Enfermedad	Fludarabine	Ketterer et al ⁵⁸
	Cancer relapse	Waterman et al ⁶²
	More difficult to harvest when relapse	Cesaro et al ⁴⁸
QMT previas	Factor also described in other diseases	
Agentes Alquilantes	Factors described in most studies	
Recuento Plaquetario		
Exposición a Fludarabina	Factors described in most recent studies	
Recaída Cáncer	Factors associated to other factors (lines of chemotherapy)	

Abbreviations: AML, acute myeloid leukemia; MM, multiple myeloma; NHL, non-Hodgkin lymphoma; HSPC, hematopoietic stem and progenitor cell.





CD34+ x 10e4/kg POR AFERESIS LINEAS DE QUIMIOTERAPIA RECIBIDA





MAQUINAS SEPARADORAS DE CELULAS

☆ **Flujo Intermitente:** Los cuales extraen, separan las diferentes células y luego reinfunden. (Requieren una vvc o periférica)

Haemonetics (Modelos 30-S, V50+, MCS).

🕒 **Flujo Continuo:** Los cuales extraen, separan e infunden simultaneamente (Requieren de dos vías).

Fenwal CS-3000+, Cobe Spectra.





Técnica de Aféresis

- La máquina más usada es COBE Spectra (Lakewood)
 - Manual
 - Automatizada: Auto-PBSC
- Spectra Optia (Lakewood)
- Amicus (Fenwall)
- COM.TEC (Fresenius)



COBE®SPECTRA™
CaridianBCT











OBJETIVO DE RECOLECCION.

- **OBTENER DOSIS SUFICIENTE DE CD34+ / kg DE RECEPTOR.**
- **EL UMBRAL ESTA ENTRE 2 a 5 x 10e6 / kg.**
- **ESTE NIVEL ORIENTA A UNA APROPIADA RECUPERACION (INJERTO) DE HEMATOPOYESIS : NEUTROFILOS Y PLAQUETAS EN DIA +8 A +14 POSTRASPLANTE.**
- **EN TRASPLANTE ALOGENICO SE RECOMIENDA UNA DOSIS MAYOR DE 5 x 10e6 /kg**





Volumen Sanguíneo Total (TBV)

$$TBV = \frac{CD34_{\text{needed}} \times \text{body weight patient}}{CD34_{\text{donor}} \times \text{collection efficiency}}$$

Fig. 6. Calculation methods for the TBV to be processed to collect a specific number of CD34 positive cells.

- Ejemplo:
- 17,5 Lt: $\frac{2 \times 10^6 \times 70 \text{ Kg}}{20 \text{ cel/ul} \times 10^6 \times EC (0,4)}$
- Volumen sanguíneo: 4,5 Lt
- Se deberían procesar 3,8 volemias

TABLE I. Gilcher's Rule of Fives

	Blood volume (mL/kg of body weight)			
	Obese	Thin	Normal	Muscular
Male	60	65	70	75
Female	55	60	65	70
Infant/child	—	—	80/70	—





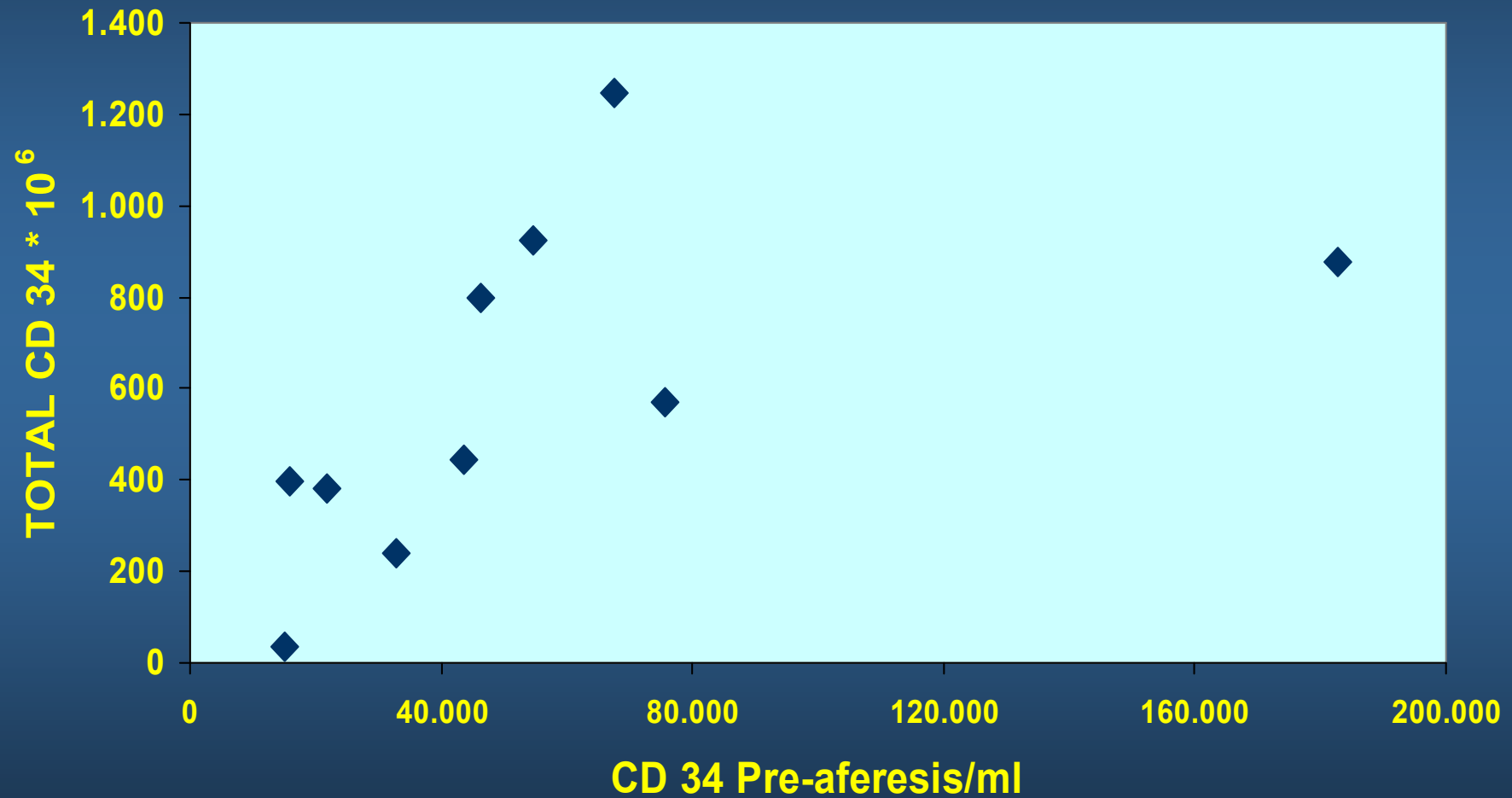
CPHP: CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS PERIFERICAS

- **Un procedimiento de LEUCAFERESIS toma en promedio 4 horas.**
- **Se procesan 3-4 volemias (15 a 20 L)**
- **Via utilizada mas frecuente es VVC. Se instala un cateter de diálisis.**
- **También obtenemos plasma autólogo para utilizar en método de criopreservación.**
- **Uso de DMSO al 10% (o 7,5%) de concentración final.**
- **Concentración de leucocitos en producto $< 5 \times 10^8$ /ml.**
- **Congelación en freezer con protocolo programado.**



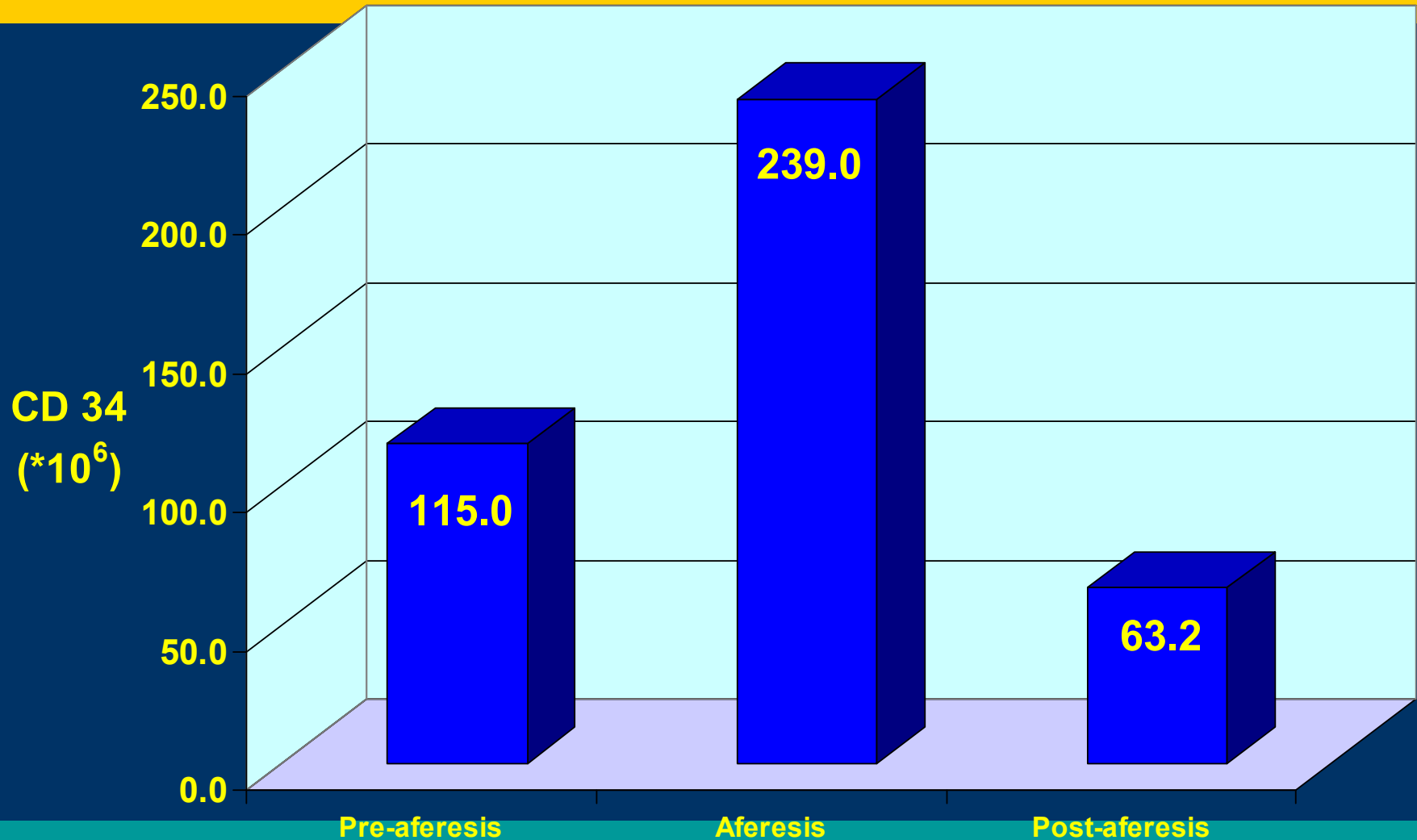


EFFECTO PREDICTOR CD 34 PRE-AFERESIS (Total)



CD 34 TOTALES

INICO UNIVERSIDAD DE CHILE
CO DE SANGRE





CANTIDAD CD 34 RECOLECTADA

- Reserva Médula Ósea.
- Estrategia Movilización.
- Equipo de aferesis (f).
- Estrategia de extracción (Volemias)
- Movilización intraprocedimiento.





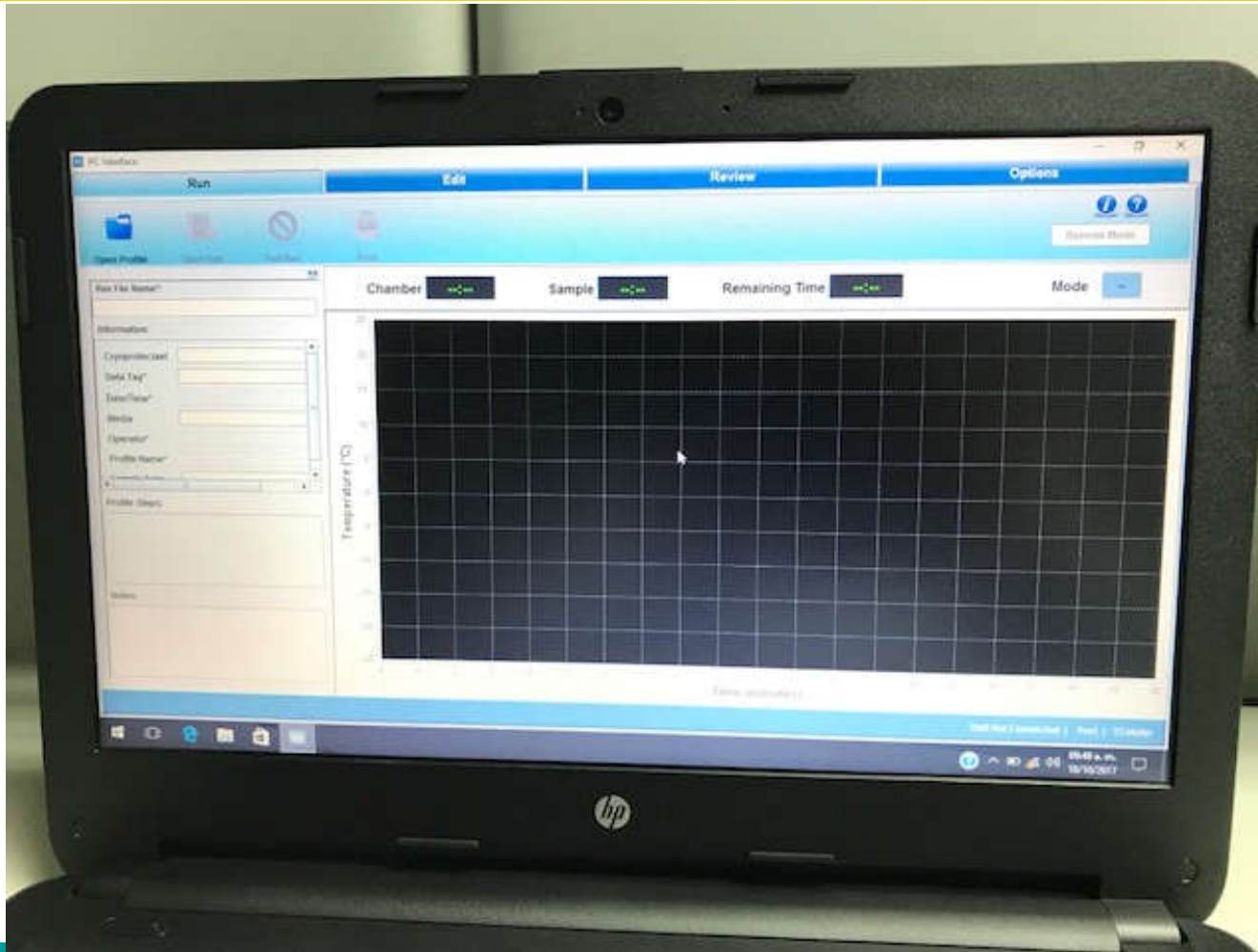


CRIOPRESERVACION





CRIOPRESERVACION





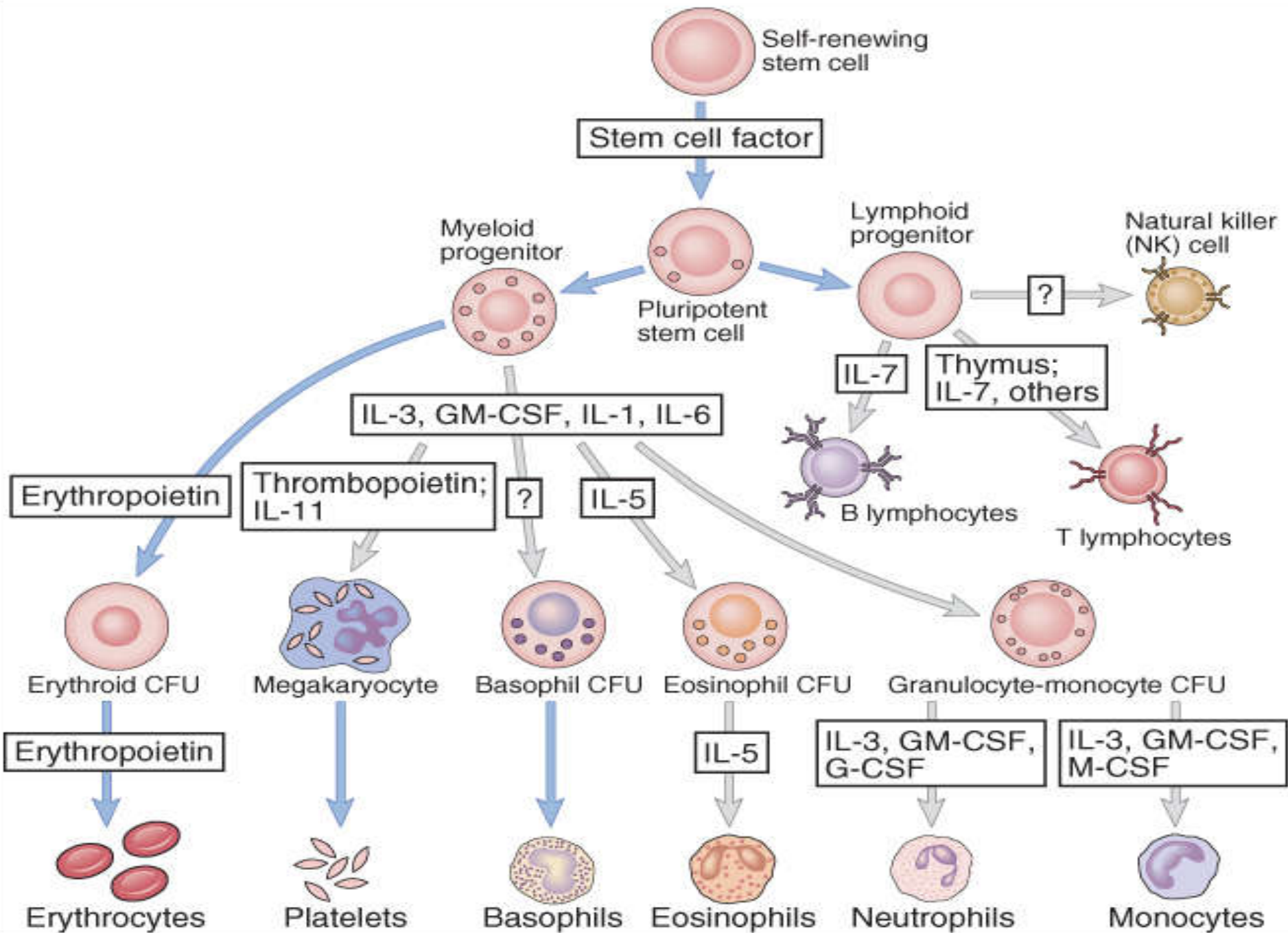
Criopreservación





Criopreservación

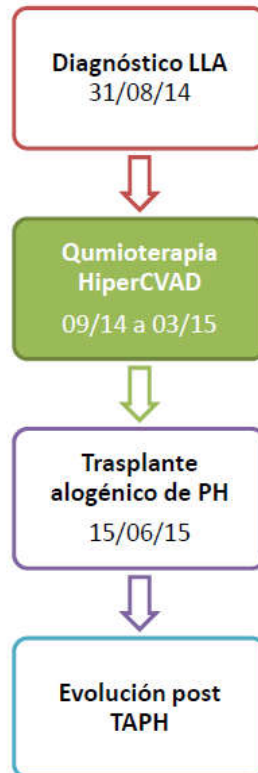






CASO CLÍNICO

TPH ALOGENICO



NRP, hombre, 22 años

Leucemia Linfoblástica Aguda Alto Riesgo

Quimioterapia Hiper-CVAD:

- 1º ciclo (Fase A 07/08/14. Fase B 25/09/14)
- 2º ciclo (Fase A 29/10/14. Fase B 28/11/14)
- REMISION COMPLETA
- Fractura EEII derecha enero 2015, Cx: OTS
- Trombosis del tronco braquiocefálico en anticoagulación con HBPM
- 3º ciclo (Fase A 03/02/15. Fase B el 06/03/15)
- REMISION COMPLETA
- Estudio HLA 3 hermanos
- 1 hermano, hombre, HLA compatible.
- Donante Grupo A. Receptor Grupo O.





Clasificación ABO donante y receptor.

RECEPTOR GRUPO O

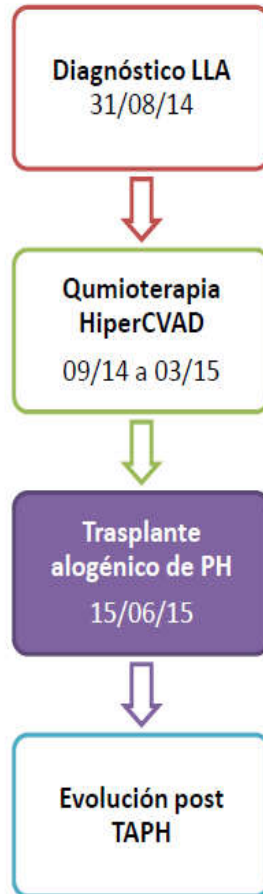


DONANTE GRUPO A





TPH Alogénico.



NRP, hombre, 22 años

Leucemia Linfoblástica Aguda Alto Riesgo

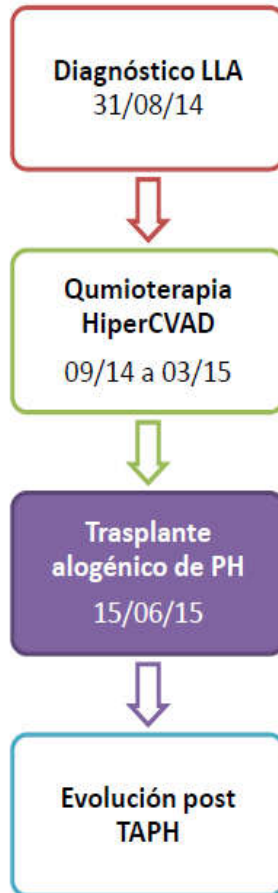
Condicionamiento:

- Ciclofosfamida 60 mg/kg
 - 3600 mg ev/día días 08.06.15 y 09.16.15
- Irradiación Corporal Total (ITC)
 - 12 Gy en 6 fracciones 2 v/día x3 (10/06 al 12/06)
- Timoglobulina (ATG) 150 mg.





TPH Alogénico.



NRP, hombre, 22 años

Leucemia Linfoblástica Aguda Alto Riesgo

ALO TRANSPLANTE DE PHSP 15/06/15:

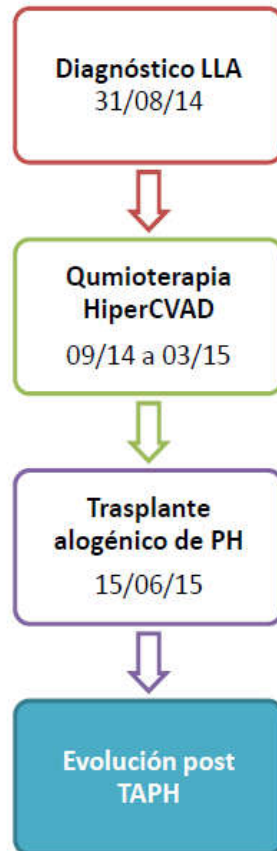
Infusión:

- Inicio : 10: 30 hrs. Término : 12:30 hrs
- 4 bolsas de 60 ml (240 ml). CD34: $2,6 \times 10(6)/\text{kg}$
- 1 1/2 bolsas de 70 ml (105 ml). CD34 $0,37 \times 10(6)/\text{kg}$
- Se toman cultivos de cada bolsa
- CD34+ infundido: $2,97 \times 10(6)/\text{kg}$
- Total CD3 infundidos: $20.151 \times 10(6)$
- En general buena tolerancia
- En la mitad de administración de la última bolsa (nº 6) inicia náuseas y vómitos con tendencia a hipertensión e inquietud por lo que se suspende infusión.





TPH Alogénico.



NRP, hombre, 22 años

Leucemia Linfoblástica Aguda Alto Riesgo

HOSPITALIZACIÓN JUNIO- JULIO (04/06 al 24/07)

- Prevención de GVH : Ciclosporina - Metrotexato
- 20 días de aplasia medular
- +21 TAPH signos de prendimiento 06/07/15
- Hb: 7.9 GB: 2400 Plq: 45.000
- Estudio de Médula ósea el día +37
- Mielograma: médula levemente hipocelular en remisión hematológica
- CMF: Enfermedad mínima residual negativa
- Clasificación: Grupo doble población OA Rh+
- Quimerismo: Quimera completa

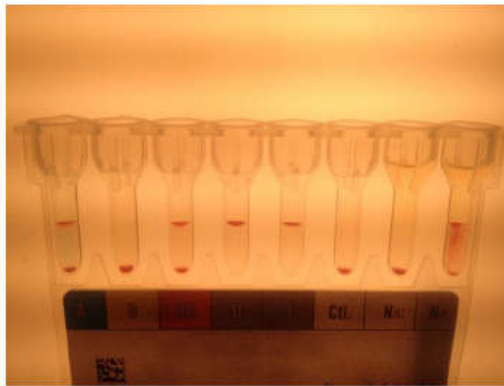




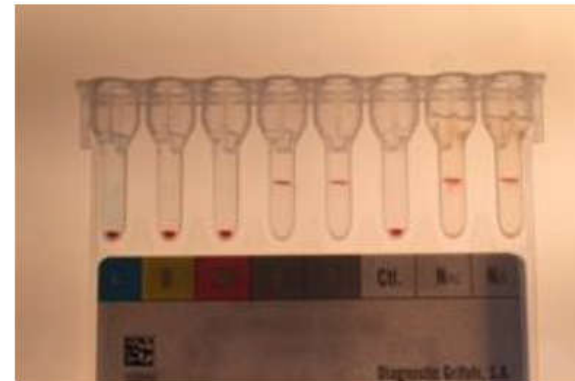
Inmunohematología.

Cambio de Grupo (0-A). Prendimiento.

CLASIFICACION 24/08/15



CLASIFICACIÓN INICIAL



Estudio inmunohematológico:

- Presenta en gel doble población mayoritariamente O y en menor expresión A.
- Se observa en prueba cruzada menor pérdida de isoaglutinina anti-A.
- Entonces, se inicia expresión fenotípica de eritrocitos A.





TPH. Alogénico (4 meses aprox)

RECEPTOR GRUPO O
06/10/15

CLASIFICACIÓN INICIAL

Prueba compatibilidad
donante A 06/10/15



Estudio inmunohematológico:

- Clasificación: Grupo O Rh+.
- Doble población mayoritariamente Grupo A y en menor expresión O.
- Se observa en prueba cruzada menor pérdida de isoaglutinina anti-A.
- Entonces, progresa expresión fenotípica de eritrocitos A.





Titular Anticuerpos anti-A.

TITULO ANTICUERPO ANTI A



	S/D	2	4	8	16	32	64	128
GR A1	3+	1+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)





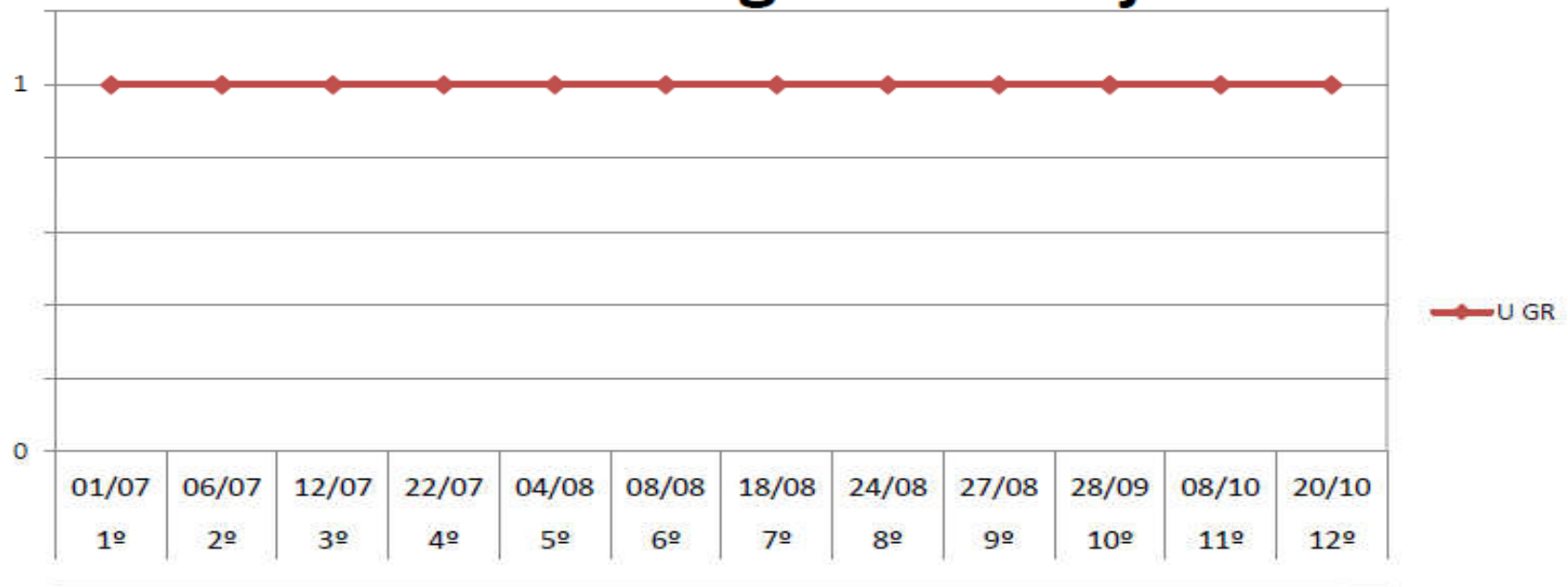
FECHA	POBLACION ABO	AGLUTININA ANTI A
24/08/15	Doble población: mayoritariamente O y menor A	++
11/09/15	Doble población: mayoritariamente O y menor A	No se detecta?
23/09/15	Grupo A (equipo con gel)	-
28/09/15	Doble población: O y A	++
06/10/15	Doble población: mayoritariamente A y menor O	++
20/10/15	Doble población: mayoritariamente A y menor O	++





Transfusiones. G. Rojos.

Transfusión glóbulos rojos



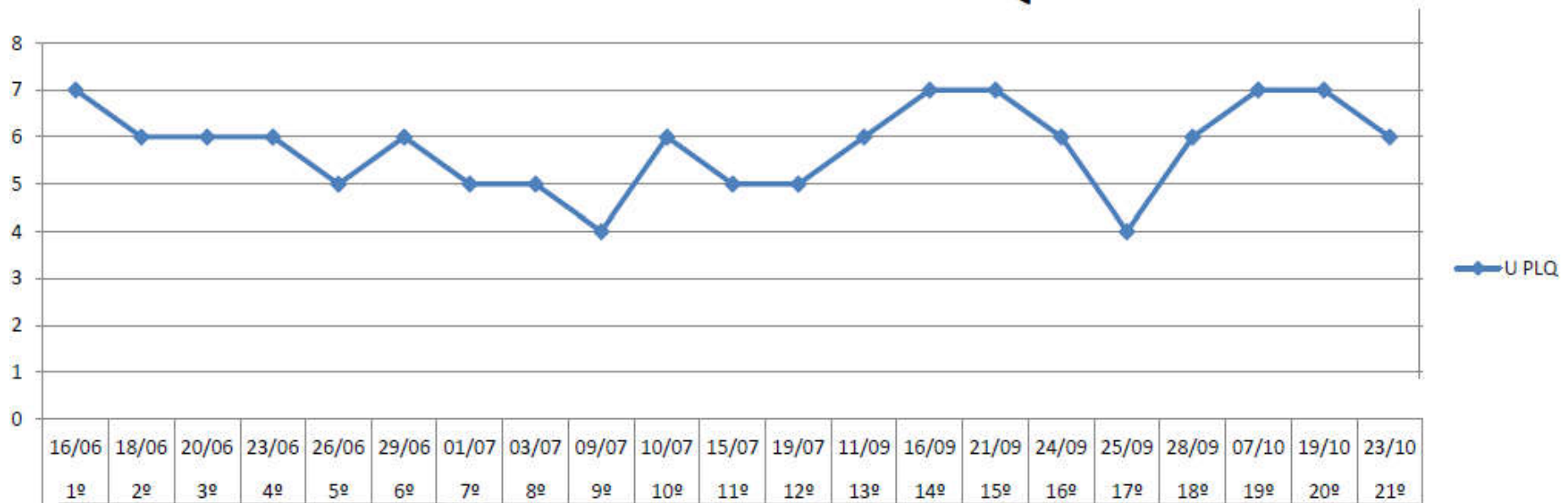
12U GR Grupo O





Transfusiones. Plaquetas

Transfusión PLQ



21 TX Plq Grupo O





- ¿Qué grupo tiene NRP actualmente?
- ¿Con que grupo lo debiéramos transfundir?
- ¿Es normal la evolución de grupo ABO que ha tenido?
- Cuando lo debiéramos transfundir con grupo A





Apoyo transfusional recomendado

Transfusion Support Recommendations for ABO-Incompatible HPC Transplantation

Recipient	Donor	Phase I*	Phase II†					Phase III‡				
		All Products	RBCs	Platelets		Plasma		RBCs	Platelets		Plasma	
				First Choice	Second Choices	First Choice	Second Choices		First Choice	Second Choices	First Choice	Second Choices
O	A	Recipient	O	A	AB, B, O	A	AB	Donor	A	AB, B, O	A	AB
O	B	Recipient	O	B	AB, A, O	B	AB	Donor	B	AB, A, O	B	AB
O	AB	Recipient	O	AB	A, B, O	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA
A	AB	Recipient	A	AB	A, B, O	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA
B	AB	Recipient	B	AB	B, A, O	AB	NA	Donor	AB	B, A, O	AB	NA
A	O	Recipient	O	A	AB, B, O	A	AB	Donor	A	AB, B, O	A	AB
B	O	Recipient	O	B	AB, A, O	B	AB	Donor	B	AB, A, O	B	AB
AB	O	Recipient	O	AB	A, B, O	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA
AB	A	Recipient	A	AB	A, B, O	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA
AB	B	Recipient	B	AB	B, A, O	AB	NA	Donor	AB	B, A, O	AB	NA
A	B	Recipient	O	AB	B, A, O	AB	NA	Donor	AB	B, A, O	AB	NA
B	A	Recipient	O	AB	O, A, B	AB	NA	Donor	AB	A, B, O	AB	NA

NA indicates not applicable.

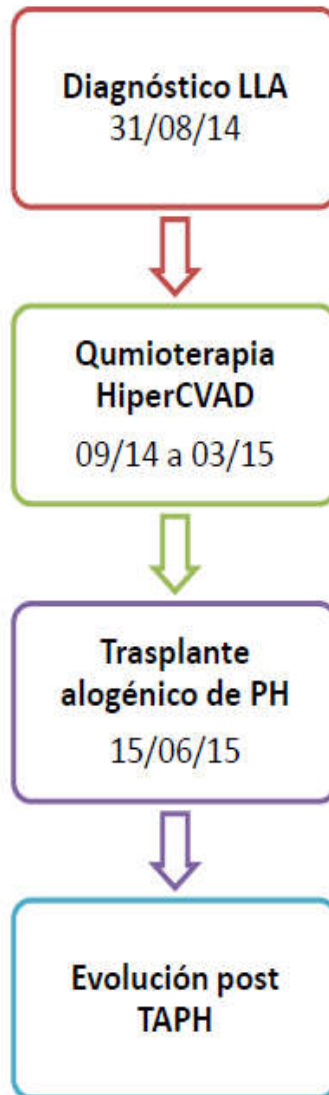
* Time period from diagnosis to transplantation.

† Time period from transplantation to RBC engraftment.

‡ Engraftment established, as indicated by direct antiglobulin testing being negative, along with 2 consecutive independent samples with the forward and reverse typing showing donor ABO status.

Fase I : Pre trasplante
Fase II : Trasplante- Prendimiento
Fase III : Post prendimiento con negativización de isoaglutinina en 2 oportunidades





- ¿En cual fase se encuentra NRP actualmente?
- ¿Con que grupo lo debiéramos transfundir?
 - GR?
 - PLQ?
- ¿Es normal la evolución de grupo ABO que ha tenido?





Equipo de Trasplante PH

Staff Hematología

- Drs. Guillermo Conte, Daniel Araos, Néstor González, Raimundo Gazitua, Jose L. Briones, Enfermeras.

Lab.Hematología.

TM Alejandra Santibañez

Lab Inmunología. Citometría

TM Soledad Ripamonti, Paola Hernández, Josefina Díaz, Asunción Beltrán

Banco de Sangre

Staff Terapia Celular

- Dr. Jorge Alfaro, Bqco Claudio Perez AT Pablo Soto.
- **Staff Aféresis de Stem Cells.**
- TM Antonio Luzzi, José M López.





Muchas gracias

