

¿Es necesario seguir criopreservando las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) para el autotrasplante?... NO



CONTROVERSIA

Is it necessary to cryopreserve hematopoietic stem cells (HSC) for autologous transplantation?... NO

Karduss-Urueta A J

Programa de Trasplante de Médula Ósea, Instituto de Cancerología- Clínica las Américas, Medellín, Colombia.

amaka@une.net.co

HEMATOLOGÍA

Volumen 21 n° Extraordinario: 31-34
1^{er} Congreso Argentino de Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas
2^{do} Congreso del LABMT

Palabras claves: Autólogo,
Trasplante,
No criopreservación

Keywords: Autologous,
Transplantation,
Non-cryopreserved.

Introducción

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) es una terapia aceptada para aumentar la supervivencia en pacientes afectados por neoplasias hematológicas como los linfomas de Hodgkin y no Hodgkin y el mieloma múltiple^(1,2). Para realizarlo es necesario primero extraer y recolectar un número suficiente de estas células, almacenarlas mientras el paciente recibe un régimen de quimioterapia en altas dosis, y posterior a esto re-infundirlas. Durante el almacenamiento estas células deben mantener su viabilidad, pero sobre todo su capacidad clonogénica. La forma tradicional como esto se realiza es mediante la congelación a temperaturas entre -190 y -80 grados centígrados^(3,4), sin embargo esta técnica es costosa, necesita un laboratorio con una infraestructura importante, consume tiempo y es

indispensable adicionar a la suspensión celular un agente crioprotector como el dimetil sulfoxido, que es tóxico e incluso puede ocasionar eventos adversos amenazantes de la vida^(5,6). Por otra parte es posible mantener la viabilidad y la capacidad clonogénica de las células progenitoras hematopoyéticas refrigeradas a 4 °C sin otra manipulación por un tiempo suficiente para administrar los regímenes de quimioterapia de alta intensidad más utilizados en los acondicionamientos de enfermos con mieloma y linfoma sin afectar el porcentaje de toma del injerto ni la eficacia del trasplante^(7,8,11,16-21). Esto simplifica, disminuye costos y, sobre todo, hace accesible el procedimiento a un número mayor de enfermos, lo que es de trascendental importancia en países con limitaciones económicas.

Almacenamiento de progenitores hematopoyéticos sin criopreservación. Resultados *in vitro*

La primera referencia en la literatura referente al almacenamiento de CPH sin congelación data de 1957⁽⁹⁾, posteriormente en 1997 Gechler⁽¹⁰⁾ en Alemania informó los resultados de la conservación de CPH obtenidas de sangre periférica (CPHS) a 4 °C durante una semana en 14 pacientes, demostró que hasta el día 5 la viabilidad fue del 80%, el porcentaje de unidades formadoras de colonia granulocito macrófago (GM-CFU) del 65.3% y las unidades formadoras de colonias eritroides (E-BFU) del 55%. Cuellar⁽¹¹⁾ en Colombia trasplantó 17 enfermos con neoplasias hematológicas utilizando CPHS sin criopreservación y refrigeradas por 6 días, la toma del injerto fue del 100%, la recuperación de neutrófilos y plaquetas ocurrió en los días +11 y +16, la viabilidad y el porcentaje de GM-CSF al momento de la infusión fueron de 80 y 50% respectivamente. Más recientemente Matsumoto⁽¹²⁾, en un estudio comparativo entre criopreservación a -80 °C versus conservación a -2 °C o refrigeración a 4 °C, encontró un porcentaje de GM-CSF del 44 +/- 15% luego de 72 horas de almacenamiento en nevera. Estos datos no son muy distintos a los obtenidos luego de criopreservación⁽¹³⁻¹⁵⁾. Por otra parte, las técnicas actuales de medición de viabilidad y capacidad clonogénica luego del proceso de criopreservación-descongelación pueden sobrestimar los resultados. De Boer⁽¹³⁾ demostró que luego del descongelamiento hay un número significativo de células en apoptosis temprana que no son medidas adecuadamente por las técnicas de exclusión de azul de tripano o de 7-AAD, lo que sobrestima la real capacidad clonogénica de ellas, esto no ocurre con la refrigeración a 4 °C.

Tomados en conjunto los anteriores resultados *in vitro* podemos afirmar que la refrigeración de las CPHS a 4 °C hasta por 6 días mantiene un número suficiente y adecuado de progenitores para lograr una reconstitución hematopoyética completa y rápida luego de la administración de dosis mieloablativas de quimioterapia.

Almacenamiento de progenitores hematopoyéticos sin criopreservación. Resultados clínicos

Tan importante como los resultados *in vitro* antes descritos es la confirmación clínica de la seguridad y efectividad del uso de CPH refrigeradas a 4 °C para

el soporte de trasplante autólogo hematopoyético en pacientes con linfoma y mieloma. Hay informados en la literatura más de 1000 trasplantes utilizando esta técnica. En 2007 Wannesson⁽⁸⁾ publicó una revisión sistemática en la que compiló 16 estudios escritos en revistas con revisión de pares que incluyó 560 trasplantes, la mayoría de ellos realizados en portadores de neoplasias hematológicas, las CPH estuvieron refrigeradas entre 2 y 6 días, los regímenes condicionantes fueron variados y dependieron de la enfermedad de base, la toma del injerto fue sobresaliente, 99.4%, sólo en dos casos hubo falla en la reconstitución hematológica. Mabed^(16,17) publicó dos series en las que se incluyeron 28 pacientes con linfoma de Hodgkin (LH) y 32 con linfoma no Hodgkin (LNH), en la totalidad de los sobrevivientes hubo una rápida reconstitución hematopoyética con granulopoyesis y trombopoyesis autónoma alcanzada en los días +12 y +14 respectivamente. Beckadja⁽¹⁸⁾ informó el resultado de 45 casos de LH trasplantados con esquema de acondicionamiento BEAM y con células refrigeradas hasta por 6 días, la toma del injerto fue universal con producción de neutrófilos y plaquetas en los días +11 y +13. En 2014 fue presentado en forma oral en el Congreso anual de la Sociedad Americana de Hematología (ASH) la experiencia de varios centros latinoamericanos con esta técnica⁽⁷⁾, el estudio incluyó 268 pacientes, de ellos 102 eran portadores de LH o LNH, recibieron como régimen preparatorio BEAM o CBV administrado en 5 días pero respetando el 100% de la intensidad de dosis, las CPHS fueron conservadas refrigeradas a 4 °C hasta por 6 días, hubo toma completa del injerto en 101 de los 102 trasplantes (99%), la viabilidad al sexto día, medida por azul de tripano, fue del 82%, la granulopoyesis y la autonomía plaquetaria se dieron en los días +12 y +17; esta serie fue recientemente actualizada a 143 casos manteniéndose los mismos resultados en lo relacionado con reconstitución hematopoyética, la sobrevida total a 36 meses fue del 70 y 64% para LH y LNH respectivamente. También en el trasplante autólogo en mieloma múltiple el uso CPHS refrigeradas tiene una amplia evidencia que soporta su seguridad y eficacia. En esta entidad hay una ventaja adicional, dado que la vida media del melfalán es corta y su administración se realiza en uno o dos días, el almacenamiento a 4 °C de las CPHS es corto, usualmente por 48 a 96 horas, muy por debajo del tiempo máximo en que man-

tienen su viabilidad y capacidad clonogénica⁽¹⁰⁻¹²⁾. López-Otero⁽¹⁹⁾ informó 26 pacientes trasplantados de manera ambulatoria con un 100% de toma del injerto, resultados similares fueron publicados por Beckadja⁽²⁰⁾ en 54 trasplantes, nuevamente en todos los casos hubo reconstitución hematológica antes del día 15 y la sobrevida total a 30 meses fue del 90%. Más recientemente Kayal⁽²¹⁾ trasplantó 92 enfermos, no hubo ninguna falla en el injerto, la recuperación de neutrófilos y plaquetas fue rápida, en los días + 10 y + 14, la mediana de sobrevida total fue de 61 meses. En la serie latinoamericana⁽⁷⁾ 151 de los 268 casos informados fueron mieloma, todos recibieron melfalán 200 mgs/m², excepto los pacientes con falla renal que fueron tratados con 140 mgs/m², las células se refrigeraron por 48 a 96 horas, la viabilidad antes de la infusión fue del 90%, no hubo ningún caso de falla del injerto, la autonomía de neutrófilos y plaquetas ocurrió en promedio en los días + 12 y + 15, la sobrevida total a 36 meses fue del 70%. Esta serie fue recientemente actualizada, el número de casos totales aumentó a 219 y el número de centros a seis, uno de Colombia, dos de México y dos de Argentina. Los resultados en el grupo de 219 enfermos corroboraron la seguridad y eficacia del procedimiento, 100% de reconstitución hematopoyética con una mediana de 15 días y una sobrevida total a 36 meses del 76%.

Conclusión

La evidencia *in vitro*, pero sobre todos los resultados clínicos obtenidos en más de 1000 pacientes, demuestran que no es indispensable criopreservar las CPH para realizar un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en pacientes con linfoma o mieloma. No sólo es posible, si no que es seguro y eficaz almacenar a 4°C los progenitores hematopoyéticos mientras se administran los regímenes de acondicionamiento más usuales, melfalán en pacientes con mieloma y BEAM o CBV en pacientes con linfoma. Esto hace más simple el trasplante, disminuye costos y permite ampliar el acceso a esta medida terapéutica a un número mayor de pacientes, todo lo anterior es de trascendental importancia en países con restricciones económicas.

Declaración de conflictos de interés:

El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

- 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- Sureda A, Bader P, Cesaro S et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumors and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplantation.* 2015; 50 :1037-1056.
- 3- Galmes A, Gutiérrez A, Sampol A et al. Long-term hematologic reconstitution and clinical evaluation of autologous peripheral blood stem cell transplantation after cryopreservation of cells with 5% and 10% dimethylsulfoxide at -80 °C in a mechanical freezer. *Haematologica.* 2007; 92:986-989.
- 4- Berz D, McCormack E, Winer E et al. Cryopreservation of Hematopoietic Stem Cells. *Am J Hematol.* 2007; 82: 463-472.
- 5- Windrum P, Morris, TC. Severe neurotoxicity because of dimethyl sulphoxide following peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31:315-318.
- 6- Hoyt R, Szer J, Grigg A et al. Neurological events associated with the infusion of cryopreserved bone marrow and/or peripheral blood progenitor cells. *Bone Marrow Transplant.* 2000;25: 1285-1287.
- 7- Karduss-Urueta A, Ruiz-Arguelles G, Perez R et al. Cell-Freezing Devices Are Not Strictly Needed to Start an Autologous Hematopoietic Transplantation Program: Non-Cryopreserved Peripheral Blood Stem Cells Can be Used to Restore Hematopoiesis after High Dose Chemotherapy: A Multicenter Experience in 268 Autografts in Patients with Multiple Myeloma or Lymphoma. Study on Behalf of the Latin-American Bone Marrow Transplantation Group (LABMT). *Blood.* 2014; 124:849.

- 8- Wannesson L, Panzarella T, Mikhael J et al. Feasibility and safety of autotransplants with noncryopreserved marrow or peripheral blood stem cells: a systematic review. *Ann Oncol.* 2007;18:623-32.
- 9- Billen D. Recovery of lethally irradiated mice by treatment with bone marrow cells maintained in vitro. *Nature.* 1957;179 :574-5.
- 10- Hechler G, Weide R, Heymanns J et al. Storage of noncryopreserved peripheral blood stem cells for transplantation. *Ann Hematol.* 1996; 72(5):303-306.
- 11- Cuellar F, Karduss A, Gomez L et al. Hematologic reconstitution following high-dose and supralethal chemoradiotherapy using stored, noncryopreserved autologous hematopoietic stem cells. *Transplantation Proceedings.* 2004; 36:1704-1705.
- 12- Matsumoto N, Yoshizawa H, Kagamu H et al. Successful liquid storage of peripheral blood stem cells at subzero non-freezing temperature. *Bone Marrow Transplantation.* 2002;30:777-784.
- 13- De Boer F, Dräger AM, Pinedo HM et al. Extensive early apoptosis in frozen-thawed CD34-positive stem cells decreases threshold doses for haematological recovery after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29:249-55.
- 14- Alencar S, Garnica M, Ronir L et al. Cryopreservation of peripheral blood stem cell: the influence of cell concentration on cellular and hematopoietic recovery. *Transfusion.* 2010;50:2402-2412.
- 15- Katayama Y, Yano T, Bessho A et al. The effects of a simplified method for cryopreservation and thawing procedures on peripheral blood stem cells. *Bone Marrow Transplantation.* 1997; 19, 283–287.
- 16- Mabed M, Shamaa S. High-Dose Chemotherapy Plus Non-Cryopreserved Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplantation Rescue for Patients With Refractory or Relapsed Hodgkin Disease. *Biol of Blood and Marrow Transplant.* 2006; 12:942-948.
- 17- Mabed M, Kgodary T. Cyclophosphamide, etoposide and carboplatine plus non-cryopreserved autologous peripheral blood stem cell transplantation rescue for patients with refractory or relapsed non-Hodgkin's lymphomas. *Bone Marrow Transplant.* 2006;37:739-43.
- 18- Bekadja M, Bouhass R. Non-Cryopreserved Peripheral Stem Cell (pSCs) Autograft for Multiple Myeloma and Lymphoma in Developing Countries. *Int J Hematol and Therap.* 2015;1: 1-6.
- 19- López-Otero A, Ruiz-Delgado G, Ruiz-Arguelles G. A simplified method for stem cell autografting in multiple myeloma: a single institution experience. *Bone Marrow Transplantation.* 2009; 44: 715–719.
- 20- Bekadja M, Brahimi M, Osmani S. A simplified method for autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2012;5:49-53.
- 21- Kayal S, Sharma A, Iqbal S et al. High-Dose Chemotherapy and Autologous Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma: A Single Institution Experience at All India Institute of Medical Sciences, New Delhi, Using Non-Cryopreserved Peripheral Blood Stem Cells. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia,* 2014; 14:140-7.