

# ¿Por qué debemos seguir congelando las células progenitoras hematopoyéticas?

Why should hematopoietic progenitor cells continue to be frozen?

Abichain P

*Médica del Centro Elaborador de Preparaciones Celulares del Programa de Trasplante de Médula Ósea, Hospital Privado Universitario de Córdoba*

pabichain@hospitalprivadosa.com.ar



CONTROVERSIA

HEMATOLOGÍA

Volumen 21 n° Extraordinario: 35-39  
1<sup>er</sup> Congreso Argentino de Trasplante  
de células progenitoras hematopoyéticas  
2<sup>do</sup> Congreso del LABMT

**Palabras claves:** CPH no congeladas,  
Trasplante autólogo,  
Criopreservación.

**Keywords:** Non-frozen HPC,  
Liquid storage,  
Autologous transplantation.

## Introducción

Uno de los elementos claves para la realización de un trasplante autólogo es preservar la viabilidad y funcionalidad de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) durante los procesos de colecta, procesamiento y almacenamiento<sup>(1)</sup>.

El objetivo de la criopreservación es prevenir el daño celular, disminuyendo los requerimientos metabólicos de las células hasta que el trasplante se realice. Actualmente es el procedimiento estándar utilizado mayoritariamente en las unidades de trasplante<sup>(1)</sup>.

Si bien no existe un protocolo universal que se emplee en todas las unidades, las diferencias son mínimas y se refieren al momento de congelación con respecto al tiempo de fin de colecta, la concentración celular, la tasa de enfriamiento, el tipo y proporción

de la solución crioprotectora, y la temperatura y duración del almacenamiento<sup>(2)</sup>.

Hay buen nivel de evidencia demostrando que la congelación preserva la viabilidad y funcionalidad de las CPH<sup>(3)</sup>, aun asumiendo que algunas células se pierden durante el proceso de congelación/descongelación. Por esta razón, cada Unidad de Procesamiento debe validar sus procesos, evaluando los parámetros de cantidad y calidad de los injertos, y procurando minimizar las pérdidas cuantitativas y cualitativas de la suspensión celular (**Tabla 1**).

En varias unidades de trasplante de América Latina<sup>(4,5)</sup> y de países fuera de esta región<sup>(6,7)</sup> se están realizando trasplantes autólogos con injertos no congelados, mantenidos en fase líquida en un refrigerador

a 4 °C desde su obtención hasta la re-infusión. Los reportes de la literatura muestran que estos pacientes tienen pérdida del injerto con una cinética similar a aquéllos cuyos productos fueron congelados<sup>(4-7)</sup>. Ante esta realidad, si existe un método que parece más sencillo y más económico, ¿deberíamos seguir

congelando?

El objetivo del presente trabajo es procurar responder esta pregunta evaluando estudios de validación, eventos que pueden presentarse entre la colecta y la re-infusión y algunos aspectos económicos.

**Tabla 1.** Estudios de validación

Categoría	Estudios
Evaluación cuantitativa (pureza)	Recuento de células nucleadas y mononucleadas Recuento de células CD34+
Evaluación cualitativa (potencia)	Viabilidad (azul tripan / citometría de flujo) Ensayos clonogénicos (unidades formadoras de colonias*)
Otras evaluaciones	Cultivos microbiológicos

\* En estudios de investigación

**Validación**

La criopreservación de CPH es un método validado<sup>(8)</sup> a través de estudios realizados durante muchos años. Inicialmente, el proceso de congelación se comenzaba al finalizar la recolección y con el menor retraso posible. Sin embargo, a medida que los trasplantes autólogos pasaron a ser una terapia estándar en el tratamiento de diferentes enfermedades, se hizo evidente la necesidad de una organización diferente y la evaluación de factibilidad de congelar suspensiones celulares obtenidas el día previo<sup>(9)</sup>. Asimismo, el incremento de los trasplantes alogénicos realizados con productos obtenidos de donantes no emparentados<sup>(10)</sup>, también significó un desafío de validación para establecer cuánto tiempo podía mediar entre la obtención y re-infusión de los injertos que deben trasladarse a través de fronteras nacionales y continentales.

La experiencia con injertos almacenados en fase líquida muestra que la viabilidad y la funcionalidad

se conservan adecuadamente por cuarenta y ocho a setenta y dos horas pos colecta<sup>(9-11)</sup>. Desafortunadamente, la evidencia sobre los parámetros de calidad de los injertos no congelados, conservados por más de tres días, no es tan fuerte y casi siempre se refiere a la cinética de recuperación hematológica de los pacientes<sup>(12)</sup>. En este contexto es difícil sostener, desde la óptica de los estudios de validación, una duración de conservación a 4 °C mayor a tres días, limitando el uso de estos productos para trasplantes con condicionamientos cortos<sup>(13-15)</sup>.

**Eventos entre colecta y re-infusión**

El empleo de CPH no congeladas requiere una coordinación eficiente de todo el proceso: movilización de progenitores hematopoyéticos, colecta por aféresis, administración de la terapia en altas dosis, y re-infusión del injerto en un esquema apretado y poco flexible<sup>(12)</sup> (**Figura 1**).

**Figura 1.** Esquema temporal en trasplante autólogo



Referencias: **M**, Movilización; **AF**, Colecta por aféresis; **C**, Condicionamiento; **I**, Re-Infusión.

Habitualmente, la colecta de CPH por aféresis es bien tolerada. Sin embargo, algunos donantes pueden presentar eventos adversos relacionados, por ejemplo, a la administración de filgrastim, hipovolemia, toxicidad por citrato, complicaciones con los accesos vasculares. Estos eventos han sido evaluados en do-

nantes alogénicos, emparentados<sup>(16,17)</sup> y no emparentados<sup>(18,19)</sup>. Aunque infrecuente, no puede desconocerse que al menos un riesgo mínimo existe<sup>(16)</sup>. La mayoría de estas reacciones son leves a moderadas y se resuelven en pocas horas; sin embargo en ocasiones la recuperación puede tomar días o aún semanas<sup>(17)</sup>.

Los donantes autólogos pueden tener comorbilidades en una proporción mayor que los donantes alogénicos y pertenecer a un grupo de edad más avanzada. Es esperable una mayor incidencia de reacciones adversas en esta población, pero los datos con los que contamos al respecto son escasos.

Si un paciente presenta una reacción adversa y su condición clínica no mejora rápidamente, hipotéticamente existe la posibilidad de tener que diferir el trasplante. En esa situación, criopreservar el injerto es la mejor opción, pero si el proceso de congelación no está disponible quedarían dos alternativas:

- a) iniciar el condicionamiento en un paciente que no se ha recuperado totalmente, con el riesgo de comprometer su seguridad; o
- b) descartar el producto, asumiendo el costo para el

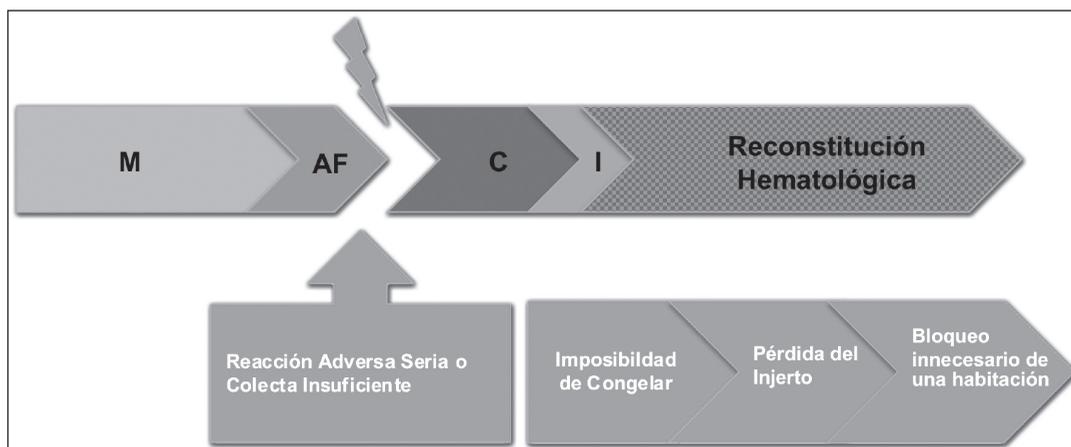
paciente y el sistema de financiación.

Evidentemente es una decisión difícil que no se plantea si las células pueden ser congeladas.

En los pacientes con mieloma múltiple, generalmente se puede coleccionar una adecuada cantidad de células CD34+ en una aféresis. Pocos pacientes (entre 5 y 15 %) son malos movilizados<sup>(20)</sup> y pueden necesitar rescate con plerixafor. En los países en desarrollo este medicamento no siempre está disponible rápidamente y habitualmente se debe planificar una nueva movilización.

En resumen, ante la presencia de reacciones adversas durante la aféresis o una movilización pobre, si las células no pueden ser congeladas, existe el riesgo de perder ese ciclo de movilización/recolección, aumentando los costos globales (**Figura 2**).

**Figura 2.** Esquema temporal en trasplante autólogo en pacientes pobres movilizados o con eventos adversos



### Aspectos económicos

El argumento más importante en contra de la criopreservación es económico<sup>(12)</sup>. Sin embargo, para realizar trasplantes autólogos, aún con injertos no congelados, es imprescindible contar con una Unidad de Colecta dentro del marco de un sistema de aseguramiento de calidad<sup>(21)</sup>, de igual modo que si se utilizan injertos congelados.

En América Latina muchas unidades de colecta funcionan dentro de los Servicios de Hemoterapia o Bancos de Sangre. En ese caso, sólo sería necesario adicionar un congelador de -80 °C y un Gabinete de Seguridad Biológica Clase II<sup>(21)</sup>. En Argentina, la compra de estos equipos significa la erogación de alrededor de 24000 dólares estadounidenses. Asumiendo al menos 10 procedimientos por año y una amortización en 10 años, significa que se tendría

que absorber un costo extra de 240 dólares estadounidenses por procedimiento.

También se deben considerar los costos directos del proceso de congelación. En la Unidad de Procesamiento del Programa de Trasplante de Médula Ósea del Hospital Privado Universitario de Córdoba, la mediana de bolsas congeladas por paciente es cinco. Utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) al 10% (concentración final) y albúmina sérica humana al 4% como solución crioprotectora, nuestro costo directo es de 4750 pesos, alrededor de 300 dólares estadounidenses.

Tal vez, contar con una Unidad de Procesamiento no sea tan gravoso económicamente si se consideran los gastos ocasionados por aquellas colectas que no pudieron ser re-infundidas.

## Conclusiones

- 1) Los productos celulares destinados a trasplante autólogo que no se congelan pueden utilizarse con adecuada seguridad para trasplantar pacientes con mieloma múltiple, enfermedad que se beneficia con un condicionamiento de corta duración.
- 2) Se necesitan estudios de validación para los productos almacenados a 4 °C por más de tres días, evaluando no solamente la viabilidad celular sino también la retención de la capacidad proliferativa de las células. No sería aconsejable emplear estos productos como fuente de trasplante hasta no contar con información proveniente de dichos estudios.
- 3) Considerando que una de las principales razones que alientan el uso de productos no congelados es económico y las dificultades con las que nos enfrentamos cotidianamente en este aspecto, sería de mucha utilidad realizar un análisis económico, evaluando el impacto de movilización, obtención de CPH(A), congelación, como así también el costo implícito en la logística de un esquema de trasplante poco flexible que puede ocasionar gastos ante eventos del paciente o del sistema difíciles de resolver si no se dispone de la estructura para congelar las suspensiones celulares.

## Declaración de conflictos de interés:

La autora declara no poseer conflictos de interés.

## Bibliografía

1. T Leemhuis, D Padley, C Keever-Taylor. Essential requirements for setting up a stem cell processing laboratory. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49:1098-1105.
2. D Berz, EM McCormack, ES Winer, GA. Colvin, y PJ. Quesenberry. Cryopreservation of Hematopoietic Stem Cells. *Am J Hematol.* 2007;82:463-472.
3. H Yang, JP Acker, M Cabuhat y LE McGann. Effects of incubation temperature and time after thawing on viability assessment of peripheral hematopoietic progenitor cells cryopreserved for transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:1021-1026.
4. Guillermo J. Ruiz-Delgado, Guillermo J. Ruiz-Argüelles. A Mexican way to cope with stem cell grafting. *Hematology.* 2012;17:195-197.
5. F Cuellar-Ambrosi, U.A. Karduss, W.R. Gómez y col. Hematologic reconstitution following high-dose and supralethal chemoradiotherapy using stored, noncryopreserved autologous hematopoietic stem cells. *Transpl Proc.* 2004;36:1704-1705.
6. M-A Bekadja, M Brahimi, S Osmani, y col. A simplified method for autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2012; 5:49-53.
7. M Mabed and T Al-Kgodary. Cyclophosphamide, etoposide and carboplatin plus non-cryopreserved autologous peripheral blood stem cell transplantation rescue for patients with refractory or relapsed non-Hodgkin's lymphomas. *Bone Marrow Transplant.* 2006; 37:739-743.
8. LJ Fry, S Querol Giner, SG Gomez y col. Avoiding room temperature storage and delayed cryopreservation provide better post-thaw potency in hematopoietic progenitor cell grafts. *Transfusion.* 2013;53:1834-1842.
9. G Moroff, S Seetharaman, JW Kurtz y col. Retention of cellular properties of PBPCs following liquid storage and cryopreservation. *Transfusion.* 2004;44:245-252.
10. GS Kao, HT Kim, H Daley y col. Validation of short-term handling and storage conditions for marrow and peripheral blood stem cell products. *Transfusion.* 2011;51:137-147.
11. P. Matuszak, E. Bembnista, A. Kubiak, y M. Kozłowska-Skrzypczak. Liquid Storage of Hematopoietic Stem Cells Versus Proliferative Potential Colony-Forming Unit Granulocyte-Monocytes: Validation of Cell Processing. *Transp Proc.* 2016;48:1810-1813.

12. L. Wannesson, T. Panzarella, J. Mikhael y A. Keating. Feasibility and safety of autotransplants with noncryopreserved marrow or peripheral blood stem cells: a systematic review. *Ann Oncol.* 2007;18:623-632.
13. MT Elzemy, EA Elwahed, AM Elafifi y col. Cryopreservative against noncryopreservative therapy in autologous hematopoietic stem cell transplantation (the Egyptian experience). *Egypt J Haematology.* 2014;39:37-43.
14. J. Sierra, E. Conde, A. Iriondo y col. Frozen vs. nonfrozen bone marrow for autologous transplantation in lymphomas: a report from the Spanish GEL/TAMO Cooperative Group. *Ann Hematol.* 1993;67:111-114.
15. M Ramzi, M Zakerinia, H Nourani y col. Non-cryopreserved hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma, a single center experience. *Clin Transplant.* 2012;26:117-122.
16. J Halter, Y Kodera, A Urbano Ispizua y col. Severe events in donors after allogeneic hematopoietic stem cell donation. *Haematologica.* 2009;94:94-101.
17. Y Kodera, K Yamamoto, M Harada y col. PBSC collection from family donors in Japan: a prospective survey. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49: 195-200.
18. MA Pulsipher, P Chitphakdithai, JP Miller y col. Adverse events among 2408 unrelated donors of peripheral blood stem cells: results of a prospective trial from the National Marrow Donor Program. *Blood.* 2009;113:3604-3611.
19. BE Shaw, J Chapman, M Fechter y col. Towards a global system of vigilance and surveillance in unrelated donors of haematopoietic progenitor cells for transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2013;1506-1509.
20. G Milone, M Martino, A Spadaro y col. Plerixafor on-demand combined with chemotherapy and granulocyte colony-stimulating factor: significant improvement in peripheral blood stem cells mobilization and harvest with no increase in costs. *Br J Haematol.* 2014;164:113-123.
21. Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante (INCUCAI). Normas para las buenas prácticas de elaboración y laboratorio para preparaciones celulares. 2012. Resolución 119/12. Accedido el 14/03/2017 a través de [www.incucai.gov.ar/files/docs-incucai/.../03-ResIncucai/.../03-res\\_incucai\\_119\\_12.pdf](http://www.incucai.gov.ar/files/docs-incucai/.../03-ResIncucai/.../03-res_incucai_119_12.pdf).