



**Universidad de
Concepción del
Uruguay**

Universidad de Concepción del Uruguay

Facultad de Ciencias Médicas

**Estudio comparativo en Trasplantes de Células Progenitoras
Hematopoyéticas criopreservadas respecto a fase líquida en
pacientes con Mieloma Múltiple**

Estudiante

Vanesa Quiroga

Asesor

Dra. Carla Cicero

Rosario, 2024

Índice

Resumen	4
Introducción	5
Justificación/Fundamentación	6
Objetivos	7
Objetivo General	7
Objetivos Específicos	7
Planteamiento del Problema	8
Marco de referencia	10
Antecedentes	10
Marco Teórico	13
Células Progenitoras Hematopoyéticas	13
Trasplante de CPH	14
Tipos de trasplante de CPH	16
Obtención de CPH para trasplante	23
Engraftment	24
Criopreservación de Células Progenitoras Hematopoyéticas	27
Trasplante de células en fase líquida	30
Materiales y métodos	31
Resultados	34
Requerimiento transfusional: criopreservadas vs. fase líquida	34
Tiempo para el engraftment: criopreservadas vs. fase líquida	37
Relación entre el requerimiento transfusional y el tiempo de engraftment: criopreservadas vs. fase líquida.	42

Comparación del rendimiento general de los trasplantes con células criopreservadas y en fase líquida en función de las cantidades de transfusiones y los días de engraftment.	44
Discusión	46
Conclusión	48
Referencias bibliográficas	51

Resumen

Título: Estudio Comparativo en Trasplantes de Células Progenitoras Hematopoyéticas criopreservadas respecto a fase líquida en pacientes con Mieloma Múltiple.

Introducción: El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es una opción para pacientes con enfermedades hematológicas malignas, como el mieloma múltiple. Existen diferentes métodos para conservar estas células antes del trasplante, siendo los más utilizados la criopreservación y la fase líquida.

Objetivo: Comparar la efectividad de los trasplantes realizados con células criopreservadas y células en fase líquida.

Metodología: Estudio observacional, transeccional, analítico y retrospectivo de historias clínicas de pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple tratados entre 2014 y 2019 en el servicio de Trasplante de Médula Ósea y Hemoterapia, midiendo variables como la cantidad de transfusiones post-trasplante, la viabilidad celular y el tiempo hasta el prendimiento del injerto (engraftment) en ambos grupos. La hipótesis del estudio sugiere que el método de conservación en fase líquida presenta una mayor viabilidad celular, menores requerimientos transfusionales y un prendimiento del injerto más rápido.

Resultados Principales: El 58,3% de los pacientes en el grupo de fase líquida no requirió transfusiones de glóbulos rojos, En el grupo de criopreservadas, el 33,3% de los pacientes no requirió transfusiones de glóbulos rojos. La fase criopreservada presenta un tiempo de prendimiento que es aproximadamente 113.78% de la fase líquida, es decir, un 13.78% más en promedio, en cuanto a la viabilidad celular tiene una pérdida significativa en células criopreservadas, lo cual no ocurre al conservarlas en fase líquida.

Conclusión: Al comparar el rendimiento general de los trasplantes con células criopreservadas y en fase líquida, las diferencias encontradas no fueron lo suficientemente significativas como para determinar con absoluta certeza la superioridad de un método sobre el otro.

Palabras Clave: Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas, Criopreservación, fase líquida.

Introducción

El trasplante CPH es un procedimiento terapéutico esencial para restaurar el sistema hematopoyético en pacientes con enfermedades hematológicas como el mieloma múltiple, leucemias y linfomas (1). El éxito del trasplante se mide, en gran parte, por el "prendimiento" o engraftment, un proceso en el cual las CPH injertadas comienzan a producir nuevos glóbulos blancos, lo que es importante para la reconstitución inmune del paciente. Este fenómeno puede ocurrir en las primeras semanas tras el trasplante o demorarse varios meses, y en algunos casos puede fallar, comprometiendo la recuperación del paciente.

La investigación de factores que influyen en el engraftment es fundamental, ya que permite predecir el éxito del trasplante y optimizar los resultados. Entre los factores críticos que afectan este proceso se encuentran el recuento de CD34+ (un marcador clave de CPH), el estado del paciente antes del trasplante, la administración de ciertos medicamentos como antifúngicos o antibacterianos, y la respuesta a los factores estimulantes de colonias utilizados durante la recolección (2).

Este estudio comparativo se enfoca en dos técnicas de conservación de CPH: la criopreservación y el almacenamiento en fase líquida a 4 °C. Ambas modalidades presentan ventajas y desafíos que pueden afectar el engraftment, la necesidad de transfusiones y la viabilidad celular. A través de la revisión de historias clínicas de pacientes trasplantados entre 2014 y 2019, esta investigación busca determinar cuál de los dos métodos proporciona mejores resultados en términos de viabilidad celular, tiempo de engraftment y número de transfusiones post-trasplante.

El presente trabajo se estructura de la siguiente manera: en el planteamiento del problema, se aborda la relevancia de optimizar los procesos de trasplante mediante una adecuada selección de técnicas de conservación de CPH. En el marco de referencia, se presentan los antecedentes y la fundamentación teórica sobre el trasplante de CPH, detallando los beneficios y limitaciones de cada técnica. En el diseño metodológico, se describe el tipo de estudio según su alcance y se

justifica su elección, así como también el diseño del estudio. A continuación, se presenta el análisis de la información obtenida, y finalmente, se exponen los resultados y conclusión de la investigación realizada.

Justificación/Fundamentación

El trasplante de células CPH representa una terapia crítica para el tratamiento de diversas enfermedades hematológicas, inmunitarias y genéticas, permitiendo la sustitución de células madre dañadas por células sanas y funcionales. Este procedimiento es vital para pacientes que han recibido quimioterapia o radioterapia intensiva, y en quienes la regeneración natural de las células hematopoyéticas no es viable. Entre los tipos de trasplante, el autólogo (donde las CPH provienen del propio paciente) es el enfoque más comúnmente utilizado en el tratamiento de enfermedades como el mieloma múltiple. Dado que las CPH son esenciales para la reconstitución hematopoyética, la calidad y cantidad de las células trasplantadas influyen directamente en el éxito del procedimiento, medido principalmente por el "prendimiento" (engraftment) que se refiere al proceso en el que las células trasplantadas se integran y comienzan a producir nuevas células sanguíneas en la médula ósea del receptor.

Al realizar un análisis comparativo de los dos métodos de conservación de células criopreservadas y células en fase líquida, en pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple que recibieron trasplante autólogo, este estudio pretende ofrecer un aporte a la optimización de los protocolos clínicos. La correcta elección del método de conservación no solo impacta en la viabilidad celular, sino también en el número de transfusiones necesarias y el tiempo de recuperación post-trasplante, lo que repercute directamente en la calidad de vida del paciente y en los costos asociados al tratamiento.

Objetivos

Objetivo General

Comparar la efectividad de los trasplantes realizados con células criopreservadas y células en fase líquida.

Objetivos Específicos

- Analizar requerimiento transfusional para los pacientes que recibieron trasplantes con células criopreservadas y aquellos con células en fase líquida.
- Describir el tiempo requerido para el engraftment en pacientes que recibieron trasplantes con células criopreservadas en comparación con aquellos que recibieron células en fase líquida.
- Determinar la relación entre el requerimiento transfusional y el tiempo de engraftment en los trasplantes con células criopreservadas y en fase líquida.
- Comparar el rendimiento general de los trasplantes con células criopreservadas y en fase líquida en función de las cantidades de transfusiones y los días de engraftment, para determinar cuál de los dos métodos ofrece mejores resultados en estos aspectos específicos.

Planteamiento del Problema

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), tanto en su modalidad con células criopreservadas como en fase líquida, es un tratamiento fundamental en enfermedades hematológicas, especialmente en el Mieloma Múltiple (3). Sin embargo, existen interrogantes sobre la efectividad comparativa de ambos métodos, específicamente en términos de requerimientos transfusionales, tiempo de engraftment (prendimiento), y rendimiento general del trasplante. Estas interrogantes son relevantes no solo por su impacto en la recuperación del paciente, sino también por la logística asociada a la criopreservación y la calidad de vida post-trasplante.

Actualmente, la criopreservación de células progenitoras hematopoyéticas es una técnica ampliamente utilizada, dado su valor en la preservación celular a largo plazo (4). Sin embargo, las células en fase líquida ofrecen la ventaja de ser utilizadas inmediatamente después de la extracción, eliminando la necesidad de descongelación y los potenciales daños celulares asociados. En este contexto, surge la necesidad de comparar la efectividad de ambos enfoques en función de los resultados clínicos observables y medibles, como el soporte transfusional y el tiempo de prendimiento, con el fin de determinar cuál de estos métodos ofrece mejores resultados en los trasplantes de pacientes con Mieloma Múltiple.

El problema principal de esta investigación radica en la falta de evidencia clara que demuestre cuál de los dos métodos, criopreservado o en fase líquida, es más efectivo en términos de requerimiento transfusional, tiempo de prendimiento y rendimiento general del trasplante. Las variables a estudiar incluyen:

- ✓ **Requerimiento transfusional:** Este se refiere a la cantidad de hemocomponentes necesarios para el soporte post-trasplante. Los indicadores para esta variable son la cantidad de transfusiones de glóbulos rojos, plaquetas u otros hemocomponentes, medidos en mililitros o unidades por paciente (5).

- ✓ **Tiempo de engraftment:** El engraftment se define como el tiempo transcurrido desde el trasplante hasta la recuperación hematológica, generalmente medida por el recuento

de neutrófilos y plaquetas. Los indicadores incluyen el número de días hasta alcanzar un recuento de neutrófilos $> 1000/\text{mm}^3$ y plaquetas $> 20,000/\text{mm}^3$ (1).

- ✓ **Rendimiento general del trasplante:** Este se refiere a la eficacia global del procedimiento en función de la combinación de variables como el soporte transfusional y el tiempo de engraftment. Para resumir esta variable compleja, se utilizará un índice compuesto que asigne un puntaje basado en los días de engraftment y las unidades de hemocomponentes transfundidos.

- ✓ **Viabilidad celular:** Hace referencia a la cantidad de Células Progenitoras Hematopoyéticas viables al momento del trasplante, según su tipo de conservación, ya sea criopreservadas o fase líquida. Aquí evaluaremos los resultados obtenidos en porcentaje de cada trasplante

Ante lo expuesto, la hipótesis planteada para este estudio es que los trasplantes realizados con CPH en fase líquida requieren menos soporte transfusional y presentan un tiempo de engraftment más corto en comparación con los realizados con CPH criopreservadas, en cuanto a la viabilidad, existen mejores resultados en porcentaje de células viables en fase líquida respecto de criopreservadas. Esto podría traducirse en un mejor rendimiento general del trasplante con células en fase líquida, mejorando así los resultados clínicos en pacientes con Mieloma Múltiple.

Marco de referencia

Antecedentes

En el estudio de Hechler et al. (6), se investigó la recolección y el almacenamiento de células madre periféricas movilizadas (PBSC) en plasma autólogo utilizando una fórmula de ácido-citrato-dextrosa (ACD-A) mediante leucáferesis con el separador de células CS3000 (Baxter). El objetivo del estudio fue evaluar la viabilidad y capacidad de proliferación y diferenciación de las células nucleadas durante un período de almacenamiento de ocho días a 4 grados Celsius.

La metodología incluyó la recolección de PBSC y su almacenamiento a baja temperatura, seguido de la evaluación de la viabilidad celular mediante la prueba azul de tripano, así como la capacidad proliferativa a través de un ensayo estandarizado para la clonación de células progenitoras. Los investigadores analizaron diariamente los cambios en la viabilidad, las unidades formadoras de colonias de granulocitos-macrófagos (CFU-GM), las unidades de formación de colonias eritroides (BFU-E) y las unidades de formación de colonias mixtas (CFU-GEMM).

Los resultados indican que la viabilidad de las células nucleadas fue del 90.8% (SD 8%) en el día 0, disminuyendo a una media del 69.5% (SD 15.5%) al día 8. En cuanto a las unidades formadoras de colonias, CFU-GM mostró una reducción al 47% (SD 28.7%), CFU-GEMM al 48% (SD 42.2%) y BFU-E al 40.1% (SD 18.4%) después de seis días. Tras cinco días de almacenamiento, la viabilidad media fue del 79.7% (SD 17.8%), mientras que las medias de CFU-GM, CFU-GEMM y BFU-E fueron del 65.3% (SD 28.4%), 61.8% (SD 30.4%) y 55.1% (SD 18.2%), respectivamente. Al día 4, la viabilidad se mantuvo en un 82.5% (SD 17.0%), con recuperaciones de CFU-GM del 78.5% (SD 28.8%), CFU-GEMM del 70.7% (SD 40.4%) y BFU-E del 65.0% (SD 17.5%). Estos hallazgos sugieren que las PBSC pueden ser almacenadas de forma segura a 4 grados Celsius durante al menos cinco días, lo que es relevante para la administración de quimioterapia a dosis altas en pacientes.

En el estudio de Al-Anazi (7), se analiza la quimioterapia de alta dosis seguida del trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas como el estándar de atención para pacientes diagnosticados con mieloma múltiple elegibles para el trasplante. El objetivo principal de esta investigación es describir el proceso de autoinjerto y evaluar la viabilidad de la terapia con

células madre autóloga sin criopreservación en centros oncológicos que carecen de instalaciones adecuadas para dicha preservación.

La metodología empleada incluye la descripción de los pasos del proceso de autoinjerto, que abarca el control de la enfermedad primaria mediante un protocolo de inducción terapéutica, la movilización y recolección de células madre a través de aféresis, y la administración de una terapia de acondicionamiento pretransplante de alta dosis. Adicionalmente, se examina la realización de autoinjertos sin criopreservación en centros oncológicos que, aunque carecen de instalaciones para la preservación, han logrado implementar la terapia con éxito. Se destaca la importancia de contar con técnicas estandarizadas de citometría CD34 para asegurar un conteo preciso de células progenitoras.

Los resultados obtenidos indican que el autotrasplante de células madre sin criopreservación es factible y puede llevarse a cabo con éxito en centros oncológicos que poseen habilidades específicas, siendo un procedimiento simple, seguro y rentable. Sin embargo, se subraya la necesidad de una adecuada planificación y coordinación entre los diferentes equipos involucrados en la movilización y recolección de células madre, así como en la administración oportuna de la quimioterapia de alta dosis y la infusión de productos celulares frescos, para lograr un resultado óptimo en el trasplante. Además, se recomienda que los equipos de gestión tengan precaución al usar filgrastim en pacientes con trastornos de células falciformes y consideren el posible desarrollo de un síndrome de injerto posterior a un autoinjerto exitoso.

El trabajo de Berz et al. (8), abordó el trasplante de células madre como un enfoque esencial en el tratamiento de diversas enfermedades, tanto malignas como no malignas. El objetivo principal de esta investigación fue examinar la importancia de la criopreservación de las células de médula ósea, que permite su almacenamiento y uso futuro en procedimientos de trasplante.

La metodología utilizada en este estudio incluyó la evaluación de distintas técnicas de criopreservación, así como los diversos criopreservativos empleados en los procesos de congelación y descongelación. Se describen las técnicas estándar que se aplican en laboratorios para asegurar la eficacia de la congelación y la capacidad de las células de médula almacenadas a largo plazo para repoblar el sistema hematopoyético.

Los resultados obtenidos evidencian que la eficiencia de la congelación ha sido comprobada de manera consistente, confirmando que las células de médula ósea pueden ser criopreservadas con éxito y utilizadas posteriormente. Estos enfoques estandarizados son fundamentales en el ámbito de la medicina regenerativa y se aplican ampliamente en laboratorios, contribuyendo al avance continuo del campo del trasplante de células madre. Así, el estudio resalta la relevancia de las técnicas de criopreservación en el éxito de los trasplantes de sangre de cordón y en tratamientos autólogos, consolidando su papel crítico en la terapia celular.

Karduss-Urueta (9) analizó el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) como una terapia clave para mejorar la supervivencia en pacientes con neoplasias hematológicas, tales como linfomas de Hodgkin y no Hodgkin, así como el mieloma múltiple. El objetivo de su estudio consistió en evaluar la viabilidad y capacidad clonogénica de las CPH almacenadas sin criopreservación, utilizando refrigeración a 4°C, y determinar si este método es seguro y eficaz para realizar trasplantes autólogos en pacientes con dichas patologías.

La metodología implicó la extracción, recolección y almacenamiento de CPH mientras los pacientes recibían quimioterapia en dosis altas. En lugar de emplear la técnica tradicional de criopreservación, que requiere el uso de crioprotectores como el dimetil sulfoxido y que puede generar eventos adversos, el enfoque de Karduss-Urueta (9) consistió en mantener las células refrigeradas a 4°C sin agentes crioprotectores, evaluando su viabilidad y eficacia para trasplantes autólogos.

Los resultados obtenidos en más de 1000 pacientes mostraron que el almacenamiento de las CPH a 4°C es no solo posible, sino también seguro y eficaz. Este método permitió preservar las células lo suficiente para la administración de regímenes de quimioterapia intensiva, como melfalán para mieloma y BEAM o CBV para linfoma, sin afectar el éxito del injerto. Además, se comprobó que esta técnica simplifica el proceso de trasplante, reduce costos y aumenta el acceso a este tratamiento, siendo de gran relevancia en países con limitaciones económicas.

Marco Teórico

El marco teórico que se presenta a continuación permite explicar y comprender los conceptos sobre células progenitoras hematopoyéticas, trasplantes realizados con células criopreservadas y células en fase líquida, proporcionando un contexto sólido para abordar el problema de investigación planteado acerca de la efectividad de los trasplantes realizados con células criopreservadas y células en fase líquida.

Células Progenitoras Hematopoyéticas

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) son células madre multipotentes responsables de la hematopoyesis, el proceso por el cual se generan las células sanguíneas. Estas células tienen la capacidad única de autorrenovarse, es decir, de producir copias de sí mismas, y de diferenciarse en los distintos linajes celulares sanguíneos, incluidos los glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Esta capacidad las convierte en componentes esenciales en el tratamiento de enfermedades hematológicas y oncológicas, así como en trastornos hereditarios o del sistema inmunológico (2).

Según Berro (10) las CPH son células que tienen la capacidad de regenerar y reemplazar el sistema hematopoyético, siendo una herramienta potencialmente curativa para diversas patologías, principalmente oncohematológicas. Por su parte, Pantoja et al. (11) señalan que el sistema hematopoyético cumple la función de reemplazar células sanguíneas que han llegado al final de su ciclo de vida o que presentan defectos, manteniendo así un equilibrio en la circulación sanguínea. Este sistema está compuesto por diversas células ubicadas en la médula ósea, la sangre y los tejidos linfoides. A partir de una célula madre hematopoyética, se originan todos los tipos celulares de la sangre, permitiendo la regeneración continua de los diferentes linajes celulares.

Las CPH se encuentran principalmente en la médula ósea, pero también pueden ser recolectadas de la sangre periférica y de la sangre del cordón umbilical. Cada una de estas fuentes tiene características específicas. La sangre de la médula ósea ha sido históricamente la fuente más común de CPH, mientras que la sangre periférica es una opción cada vez más utilizada gracias a los avances en técnicas de movilización celular, como el uso del factor estimulante de colonias

de granulocitos (G-CSF), que estimula la migración de las células de la médula ósea hacia el torrente sanguíneo. La sangre del cordón umbilical también es una fuente importante de CPH, particularmente en trasplantes pediátricos debido a su capacidad inmunológica más tolerante (2).

Este concepto es relevante para el trabajo que se realiza debido a que las células criopreservadas y en fase líquida las CPH representan un recurso para la medicina en el ámbito de los trasplantes y terapias avanzadas. En el caso de las células criopreservadas, las CPH conservan su capacidad funcional tras ser almacenadas a bajas temperaturas, lo que permite su uso diferido en procedimientos clínicos y de investigación. Por otro lado, las CPH en fase líquida, obtenidas directamente de la médula ósea o de la sangre periférica tras procesos de movilización, ofrecen ventajas en términos de viabilidad celular inmediata y aplicación directa en terapias autólogas o alogénicas.

Trasplante de CPH

El trasplante de CPH consiste en la recolección de estas células de un donante (o del propio paciente en trasplantes autólogos), seguida de su infusión intravenosa en el receptor. Una vez infundidas, las células migran hacia la médula ósea, donde inician el proceso de regeneración del sistema hematopoyético del paciente. Este procedimiento es fundamental en el tratamiento de enfermedades como leucemias, linfomas y otras patologías hematológicas severas (2).

La compatibilidad entre el donante y el receptor es imprescindible para asegurar el éxito de un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), ya que influye directamente en la aceptación del injerto y en la prevención de complicaciones postrasplante. Esta compatibilidad está determinada por los antígenos leucocitarios humanos (HLA, por sus siglas en inglés), que son proteínas ubicadas en la superficie de las células y que desempeñan un papel fundamental en el reconocimiento inmunológico entre las células del cuerpo. El sistema HLA permite al sistema inmunológico diferenciar entre células propias y extrañas, lo cual es esencial para evitar respuestas inmunitarias adversas (2)-

Una correcta tipificación HLA entre donante y receptor es vital para reducir el riesgo de rechazo del injerto, una complicación grave en la que el cuerpo del receptor reconoce las células trasplantadas como extrañas y las ataca, impidiendo su correcta integración. Además, la compatibilidad HLA disminuye la probabilidad de desarrollar enfermedades como la enfermedad injerto contra huésped (EICH). En los trasplantes alogénicos, cuando el sistema inmunológico del donante ataca los tejidos del receptor, se produce una respuesta inmunológica que puede dañar órganos vitales como el hígado, la piel y el tracto gastrointestinal, complicando gravemente el proceso de recuperación y poniendo en riesgo la vida del receptor (2).

El proceso de tipificación HLA involucra identificar las variantes genéticas específicas de los HLA de ambos, donante y receptor, y evaluar su compatibilidad. Cuanto mayor sea la coincidencia en los alelos HLA, menor será la probabilidad de rechazo del injerto y de desarrollar complicaciones inmunológicas. En los casos en que la compatibilidad es parcial, los médicos recurren a tratamientos inmunosupresores para controlar la respuesta inmunitaria y prevenir el rechazo. No obstante, el grado de compatibilidad HLA sigue siendo un factor determinante en el éxito a largo plazo del trasplante, ya que, según estudios como el de Nanni (2), la incompatibilidad HLA incrementa notablemente los riesgos de rechazo y complicaciones postoperatorias.

El trasplante de células hematopoyéticas continúa siendo un procedimiento complejo, asociado a una alta tasa de complicaciones, influenciadas por diversos factores de riesgo. De manera esquemática, el día del trasplante se designa como día 0. Antes de este momento, el paciente recibe el tratamiento de acondicionamiento y, en los trasplantes alogénicos, se inicia la inmunosupresión, que se extiende desde el día anterior a la infusión hasta el día +3. Generalmente, el recuento de neutrófilos desciende a los pocos días de la infusión de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), y el proceso de engraftment o prendimiento del injerto varía en función del tipo de trasplante y la fuente celular utilizada (10).

Según la gravedad de las complicaciones, el paciente puede experimentar eventos de morbilidad severa, tales como la necesidad de intubación orotraqueal (IOT) y asistencia respiratoria mecánica (ARM), el uso de vasopresores o la necesidad de diálisis, lo que en algunos casos puede culminar con el fallecimiento del paciente. Estas complicaciones pueden agruparse en

dos categorías: las que resultan en mortalidad relacionada con el trasplante (MRT) y aquellas que implican la recaída o progresión de la enfermedad subyacente (10).

Los aspectos mencionados permiten comprender los riesgos inherentes al trasplante de CPH, desde la selección del donante, la tipificación HLA y el monitoreo postrasplante. Cada etapa requiere un equilibrio cuidadoso entre maximizar los beneficios y minimizar los riesgos asociados. La elección entre células criopreservadas y células en fase líquida influye en los resultados clínicos del trasplante. Las células criopreservadas permiten mayor flexibilidad en el tiempo, pero pueden presentar una reducción en la viabilidad y funcionalidad debido al proceso de congelación y descongelación. Por otro lado, las células en fase líquida se caracterizan por una mayor viabilidad, aunque su uso está limitado por la necesidad de una administración inmediata.

Tipos de trasplante de CPH

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento esencial para restaurar la función de la médula ósea en pacientes cuyo sistema hematopoyético ha sido suprimido, generalmente debido a tratamientos de quimioterapia o radioterapia intensivos. Además, el tipo de trasplante se clasifica en función de la relación entre el donante y el receptor, lo que define el riesgo de complicaciones y el éxito del injerto (12).

a) Trasplante singénico: es un procedimiento en el que las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se transfieren entre gemelos idénticos o univitelinos, quienes comparten el mismo material genético debido a su origen de un único óvulo fertilizado que se dividió en dos embriones. A diferencia de los trasplantes alogénicos (entre individuos no idénticos), donde la compatibilidad HLA es fundamental para reducir el riesgo de rechazo y complicaciones inmunológicas, el trasplante singénico ofrece una ventaja significativa al tener una coincidencia antigénica total entre el donante y el receptor. Esto significa que no existen diferencias en los antígenos leucocitarios humanos (HLA), eliminando prácticamente el riesgo de rechazo del injerto y la posibilidad de desarrollar la enfermedad injerto contra huésped

(EICH), una complicación grave en la que el sistema inmunológico del donante ataca los tejidos del receptor (13).

Dado que en los trasplantes singénicos el sistema inmunológico del receptor reconoce las células trasplantadas como propias, no se requiere el uso de tratamientos inmunosupresores, que en otros tipos de trasplantes son esenciales para prevenir el rechazo. Esta ausencia de necesidad de inmunosupresión no solo disminuye las complicaciones asociadas con los efectos secundarios de estos medicamentos, sino que también mejora la calidad de vida del paciente durante el proceso de recuperación. El trasplante singénico, por lo tanto, es considerado el tipo más seguro de trasplante desde una perspectiva inmunológica.

Sin embargo, a pesar de sus claros beneficios, el trasplante singénico es extremadamente raro en la práctica clínica debido a la baja incidencia de gemelos idénticos en la población. Solo un pequeño porcentaje de la población nace como gemelos univitelinos, lo que limita la aplicabilidad de este tipo de trasplante a una minoría de pacientes. En consecuencia, la mayoría de los trasplantes de CPH que se realizan en todo el mundo son autólogos (donde las propias células del paciente se recolectan y reimplantan) o alogénicos, donde el donante y el receptor son diferentes.

A pesar de su rareza, el trasplante singénico sigue siendo una opción invaluable en los casos en que es posible, ya que proporciona una solución óptima para pacientes que necesitan un trasplante de CPH sin las complicaciones inmunológicas asociadas con otros tipos de trasplantes. Los estudios, como el de Pasquini y Wang (2009), destacan la seguridad y eficacia de este tipo de procedimiento, aunque subrayan que su aplicación está limitada por la rareza de encontrar gemelos idénticos en necesidad de trasplante.

b) Trasplante alogénico: Este se lleva a cabo entre individuos genéticamente diferentes, pero que comparten la mayor compatibilidad posible en los antígenos del sistema HLA (antígenos leucocitarios humanos). Un mayor grado de compatibilidad en los antígenos HLA entre el donante y el receptor es fundamental para reducir el riesgo de complicaciones, aunque

la diferencia genética siempre conlleva cierto riesgo de rechazo y EICH. Dentro de este tipo, se distinguen varias subcategorías según la relación entre el donante y el receptor:

- **Hermanos HLA idénticos:** Aquellos que presentan una coincidencia total en los antígenos HLA de clase I y II, lo cual es ideal para un trasplante, aunque solo entre un 25-30% de los pacientes tienen un hermano compatible (14). En los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), contar con un hermano HLA idéntico es considerado el escenario ideal, ya que la coincidencia genética entre hermanos permite una mayor probabilidad de éxito en el trasplante. Un donante HLA idéntico es preferible porque, al compartir tanto los antígenos de clase I (presentes en la mayoría de las células del cuerpo) como los de clase II (principalmente en células del sistema inmune), se logra una compatibilidad inmunológica casi completa. Esto no solo reduce las complicaciones post-trasplante, sino que también mejora las tasas de supervivencia a largo plazo y disminuye la necesidad de inmunosupresión intensa, que es necesaria en casos de incompatibilidad HLA.

A pesar de ser el donante más adecuado, solo entre el 25-30% de los pacientes que necesitan un trasplante de CPH tienen un hermano completamente compatible en términos de HLA. Este porcentaje se debe a la herencia de los genes HLA, que son transmitidos por los padres. Cada hermano tiene una probabilidad del 25% de recibir el mismo conjunto de antígenos HLA que otro hermano, lo que limita las posibilidades de encontrar una coincidencia perfecta dentro de la familia. Esta dificultad hace que muchos pacientes deban recurrir a donantes no emparentados, lo que aumenta los riesgos asociados con la incompatibilidad HLA (14).

Para los pacientes que no tienen un hermano HLA idéntico, se exploran otras opciones, como la búsqueda de donantes en registros internacionales o el uso de trasplantes haploidénticos, en los que el donante comparte al menos la mitad de los antígenos HLA. Sin embargo, estos procedimientos conllevan mayores riesgos de complicaciones inmunológicas, como el rechazo del injerto y la EICH, en comparación con los trasplantes realizados con un hermano HLA idéntico.

La identificación de un hermano HLA idéntico no solo mejora las perspectivas de éxito del trasplante, sino que también acelera el proceso de trasplante, ya que evita la necesidad de realizar búsquedas prolongadas de donantes compatibles en registros

externos. En resumen, aunque encontrar un hermano HLA idéntico es relativamente poco común, sigue siendo una de las opciones más favorables en términos de seguridad, eficacia y recuperación para los pacientes que requieren un trasplante de CPH (14).

- **Hermanos u otros familiares parcialmente idénticos:** Donantes con diferencias en uno o dos loci del HLA, lo que incrementa la incidencia de EICH (15). La EICH ocurre cuando las células inmunitarias del donante reconocen los tejidos del receptor como extraños y comienzan a atacarlos. Esto puede dar lugar a síntomas graves que afectan diversos órganos, como la piel, el hígado, el tracto gastrointestinal, y en algunos casos, puede llegar a ser potencialmente mortal. La probabilidad de que se desarrolle la EICH aumenta significativamente cuando el donante y el receptor no coinciden completamente en los loci del HLA, ya que las diferencias antigénicas amplifican la respuesta inmunitaria del injerto. En los casos de trasplantes con donantes parcialmente idénticos, las células del injerto pueden detectar los tejidos del receptor como "no propios", lo que desata una reacción inmunológica dañina.

A pesar de los riesgos, los trasplantes con donantes familiares parcialmente idénticos, como hermanos o padres, continúan siendo una opción importante cuando no se dispone de un donante HLA idéntico. Este tipo de trasplante, también conocido como trasplante haploidéntico, comparte al menos la mitad de los antígenos HLA entre el donante y el receptor. Aunque el riesgo de EICH es mayor, las técnicas modernas de inmunosupresión y manejo post-trasplante han avanzado considerablemente, permitiendo controlar en muchos casos la severidad de la EICH y mejorar los resultados de estos trasplantes.

Además, la relación familiar entre donante y receptor aporta ciertas ventajas. Al compartir parte del material genético, los donantes familiares, incluso parcialmente compatibles, tienden a ofrecer mejores resultados que los donantes no emparentados, debido a que los riesgos inmunológicos suelen ser más manejables en el contexto de una relación genética cercana. El acceso más rápido a un donante familiar también permite reducir el tiempo de espera para el trasplante, lo cual es crítico en pacientes con

enfermedades progresivas o agresivas, donde el tiempo es un factor esencial para la supervivencia.

Sin embargo, es importante destacar que la diferencia en uno o dos loci del HLA en este tipo de trasplantes no solo aumenta el riesgo de EICH, sino que también puede incrementar la probabilidad de rechazo del injerto. En estos casos, el sistema inmunológico del receptor puede reconocer el injerto como extraño y atacarlo, lo que compromete el éxito del trasplante y puede llevar a complicaciones serias. Por este motivo, los pacientes que reciben trasplantes de donantes parcialmente idénticos deben someterse a un monitoreo más riguroso y, generalmente, a regímenes de inmunosupresión más intensivos para evitar tanto el rechazo como la EICH.

- **Donantes haploidénticos:** Un donante familiar, como un padre o madre, comparte un haplotipo HLA con el receptor. En estos casos, el riesgo de EICH es considerablemente mayor, y por ello se utilizan tratamientos preventivos, como la depleción de linfocitos T (16).

La EICH ocurre cuando las células inmunitarias del injerto, que provienen del donante, reconocen las células del receptor como extrañas y comienzan a atacarlas. Este fenómeno es más común en trasplantes haploidénticos debido a las diferencias en uno o más loci HLA, que pueden generar un conflicto inmunológico más pronunciado. En consecuencia, el manejo de los trasplantes haploidénticos requiere un enfoque más riguroso para prevenir la EICH y otros problemas relacionados con el trasplante (16).

Para mitigar el riesgo de EICH en pacientes que reciben un injerto de un donante haploidéntico, se implementan estrategias de tratamiento preventivas, siendo una de las más comunes la depleción de linfocitos T. Esta técnica consiste en eliminar selectivamente los linfocitos T del injerto antes de la infusión en el receptor. La depleción de linfocitos T puede llevarse a cabo mediante diferentes métodos, como el uso de anticuerpos monoclonales o agentes químicos que atacan específicamente estas células inmunitarias. Al reducir la cantidad de linfocitos T en el injerto, se busca disminuir la capacidad del injerto para reconocer y atacar los tejidos del receptor, lo que a su vez reduce la incidencia y la gravedad de la EICH (16).

Además de la depleción de linfocitos T, los pacientes trasplantados de donantes haploidénticos suelen requerir regímenes intensivos de inmunosupresión. Estos tratamientos se diseñan para suprimir la respuesta inmunitaria del receptor de manera más efectiva, evitando así el rechazo del injerto. La combinación de depleción de linfocitos T y tratamientos inmunosupresores puede mejorar significativamente las tasas de supervivencia y el éxito del injerto en estos pacientes.

Otra consideración importante en los trasplantes haploidénticos es el monitoreo continuo del paciente. La vigilancia cuidadosa es esencial para detectar signos tempranos de EICH y otros problemas relacionados con el trasplante. Los equipos médicos suelen realizar evaluaciones regulares que incluyen análisis de sangre, estudios de función de órganos y pruebas específicas para identificar cualquier indicio de EICH o rechazo del injerto. El manejo proactivo y la intervención temprana son esenciales para mejorar los resultados en estos casos (16).

Entre las ventajas de los trasplantes haploidénticos, se tienen: La disponibilidad de un donante familiar puede reducir el tiempo de espera para el trasplante, lo que es fundamental para pacientes con enfermedades hematológicas o malignidades que requieren un trasplante urgente. Además, el vínculo familiar puede facilitar una mejor comunicación y colaboración entre el donante, el receptor y el equipo médico, lo que puede contribuir a una atención más integral y personalizada (16).

- **Donantes no emparentados:** Las células progenitoras provienen de registros internacionales de donantes de médula ósea. A pesar de que el donante no está emparentado, debe ser HLA compatible en todos los loci posibles, aunque siempre existe un mayor riesgo de complicaciones en comparación con los donantes relacionados (17).

A pesar de que el donante no esté emparentado con el receptor, es fundamental que se realice una exhaustiva tipificación HLA para asegurar la compatibilidad en todos los loci posibles. La coincidencia en los antígenos HLA es vital para minimizar el riesgo de rechazo del injerto y de desarrollar enfermedad injerto contra huésped (EICH), una complicación común en los trasplantes. Sin embargo, debido a la naturaleza no relacionada del donante, la probabilidad de encontrar una coincidencia completa puede

ser menor que en los trasplantes de donantes emparentados, lo que plantea un desafío adicional (17).

La búsqueda de un donante no emparentado generalmente se realiza a través de organizaciones y bancos de tejidos que mantienen registros de posibles donantes en todo el mundo. Este proceso puede implicar pruebas de HLA, análisis de sangre y, en algunos casos, una evaluación médica más exhaustiva para asegurar que el donante sea apto para la donación. Dada la importancia de encontrar un donante compatible, el proceso de búsqueda puede ser largo y complicado, pero es esencial para el éxito del trasplante.

A pesar de los avances en la medicina traslacional y la inmunología, los trasplantes de donantes no emparentados presentan un mayor riesgo de complicaciones en comparación con los trasplantes de donantes relacionados. Esta mayor incidencia de complicaciones se atribuye a varios factores, incluyendo la menor posibilidad de coincidencia HLA y la falta de la "memoria inmunológica" que puede existir en los trasplantes entre familiares. La memoria inmunológica se refiere a la capacidad del sistema inmunológico para reconocer y tolerar el tejido del donante, algo que puede estar más desarrollado en los donantes emparentados debido a la relación genética (17)).

Los pacientes que reciben trasplantes de donantes no emparentados suelen requerir un enfoque más intensivo en términos de inmunosupresión para prevenir la EICH y otros problemas postoperatorios. Esto implica el uso de regímenes de tratamiento más agresivos que pueden incluir medicamentos inmunosupresores, como ciclosporina o tacrolimus, así como el monitoreo continuo de la función inmunitaria y la salud general del paciente (17).

c) **Autotrasplante:** En este tipo de trasplante, las células progenitoras se extraen del propio paciente y se reinfunden después de un tratamiento erradicador de la enfermedad. Uno de los riesgos de esta modalidad es la posible reinfusión de células tumorales contaminadas, lo que limita su uso en enfermedades hematológicas primarias. A pesar de ello, el autotrasplante no enfrenta el problema de la EICH y se considera el tratamiento de elección para ciertos tipos de neoplasias hematológicas (15).

Este hecho limita su uso en pacientes con ciertas patologías hematológicas primarias donde la presencia de células malignas puede ser más difícil de detectar antes del trasplante. A pesar de estas preocupaciones, el autotrasplante se considera el tratamiento de elección para varios tipos de neoplasias hematológicas, como el linfoma de Hodgkin y algunos tipos de leucemia, gracias a su capacidad para proporcionar un rescate efectivo de la médula ósea después de un tratamiento agresivo. Este procedimiento no solo permite a los pacientes recibir dosis más altas de terapia, sino que también les ofrece la oportunidad de recuperar su función hematológica y mejorar sus tasas de supervivencia a largo plazo, haciendo del autotrasplante una opción valiosa en el manejo de enfermedades hematológicas malignas.

Es importante tener en cuenta los distintos tipos de trasplante, ya que diferentes modalidades presentan requisitos específicos de manejo celular. En los trasplantes de células madre hematopoyéticas, es relevante la selección, recolección, procesamiento y almacenamiento de las células progenitoras, así como garantizar su viabilidad y funcionalidad para restablecer la hematopoyesis en el receptor. Además, las tecnologías asociadas al manejo celular, como la criopreservación, la expansión ex vivo y los ensayos de calidad, varían considerablemente entre tipos de trasplante.

Obtención de CPH para trasplante

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) pueden obtenerse de diversas fuentes, como la médula ósea, la sangre periférica y la sangre de cordón umbilical, cada una con sus ventajas y desafíos específicos

a) Médula ósea: Históricamente, la médula ósea ha sido la fuente original de CPH. La recolección de médula se realiza en un entorno quirúrgico bajo anestesia, y se aspira médula ósea a través de las crestas ilíacas posteriores. Aunque este método sigue siendo relevante, su uso ha disminuido a favor de la sangre periférica, que ofrece una recuperación más rápida (14).

b) Sangre periférica: La sangre periférica contiene pocas células madre en condiciones normales, pero el número de CPH circulantes puede aumentar significativamente tras la administración de factores de crecimiento como el G-CSF. Este método es el más común en la actualidad debido a la rapidez en la recuperación hematológica, lo que reduce las

complicaciones y el tiempo de hospitalización (Jaramillo et al., 2018). Estudios han demostrado que el uso de células madre de sangre periférica en trasplantes alogénicos puede ser igualmente eficaz que la médula ósea, a pesar de los riesgos iniciales asociados con la EICH (18).

c) **Cordón umbilical:** La sangre de cordón umbilical es una fuente rica en progenitores hematopoyéticos, pero su volumen limitado puede resultar en una recuperación más lenta. Inicialmente utilizado en niños, su éxito en adultos ha mejorado gracias a avances en técnicas de recolección y un mayor número de unidades disponibles (17).

Un aspecto que vale destacar es que la criopreservación de las CPH obtenidas de estas fuentes requiere el uso de crioprotectores como el dimetilsulfóxido (DMSO), los cuales previenen la formación de cristales de hielo durante la congelación. Sin embargo, el proceso puede afectar la viabilidad celular y debe ser comparado con la eficacia de las células en fase líquida, que no enfrentan este problema.

Engraftment

El engraftment es un proceso clave en el éxito de un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TPH), ya que implica la recuperación del sistema hematopoyético del paciente tras el trasplante. El éxito del engraftment depende de diversos factores como la fuente de las células madre, el régimen de acondicionamiento, y las características específicas del donante y receptor.

En un TPH, el engraftment se refiere al establecimiento y proliferación de las células progenitoras hematopoyéticas en la médula ósea del receptor, lo que permite la recuperación de las líneas celulares sanguíneas. Los principales indicadores clínicos de un engraftment exitoso incluyen la recuperación de los leucocitos ($>1,000/\mu\text{l}$) y plaquetas ($>20,000/\mu\text{l}$). Según un estudio de Zander et al. (19), la cantidad de unidades formadoras de colonias (CFU) por kilogramo de peso del receptor es uno de los factores más importantes para predecir el tiempo de engraftment, superando incluso a la cantidad de células CD34+ trasplantadas. Los resultados

muestran que una mayor cantidad de CFU por kilogramo está correlacionada con una recuperación más rápida de leucocitos y plaquetas en comparación con otros factores (19).

Es importante destacar que el tipo de trasplante también influye en el tiempo de engraftment. En el caso de los trasplantes autólogos (del propio paciente), el engraftment tiende a ser más rápido en comparación con los trasplantes alogénicos (de un donante). Según los estudios, el engraftment de leucocitos y plaquetas ocurre más rápidamente en trasplantes sinérgicos y autólogos que en los alogénicos. Por ejemplo, la recuperación de los leucocitos puede suceder alrededor del día 9 en trasplantes sinérgicos, comparado con el día 15 en trasplantes alogénicos (19).

El régimen de acondicionamiento antes del trasplante también juega un papel fundamental, ya que prepara el sistema inmunológico del receptor y puede influir en la velocidad de recuperación. Los trasplantes que utilizan células de sangre periférica (PBSC) muestran tiempos de engraftment más rápidos en comparación con los trasplantes de médula ósea (BMT), lo que sugiere que la fuente de las células también es un factor determinante (19).

Según Appelbaum (20) el recuento de las células en la sangre periférica alcanza su nivel más bajo en los días posteriores al trasplante, como consecuencia del régimen preparatorio. A partir de ese momento, comienza el proceso de *engraftment*, cuando las células madre trasplantadas empiezan a generar nuevas células que se manifiestan en la sangre periférica. La velocidad de este proceso de *engraftment* depende del origen de las células madre, del uso de factores de crecimiento después del trasplante y de las medidas de profilaxis empleadas para prevenir la enfermedad engraftment contra huésped (GVHD).

Si las células madre provienen de la médula ósea, el *engraftment* generalmente se produce alrededor del día 16, cuando se alcanzan 100 granulocitos/ μL , y aproximadamente el día 22 se llega a 500 células/ μL . En comparación, el uso de células madre de sangre periférica, movilizadas mediante G-CSF, acelera el *engraftment* en aproximadamente una semana en comparación con la médula ósea. En el caso de trasplantes de sangre de cordón umbilical, el engraftment es más lento, con un retraso de alrededor de una semana respecto a la médula (20).

El uso de factores de crecimiento mieloide, como G-CSF o GM-CSF, puede acelerar el *engraftment* entre tres y cinco días. No obstante, la administración de metotrexato como profilaxis contra la GVHD tiende a retrasar el proceso de injerto de manera similar. En trasplantes alogénicos, el éxito del *engraftment* se confirma mediante técnicas como la hibridación fluorescente in situ (FISH) de los cromosomas sexuales cuando hay diferencias de género entre el donante y el receptor, o mediante el análisis de repeticiones en tándem cortas (STR) tras la amplificación del ADN (20). De este modo, el *engraftment* representa la fase crítica en la cual las células madre trasplantadas se establecen y comienzan a regenerar el sistema hematopoyético del receptor.

Por su parte, Berro (10) indica que se conoce como falla primaria del *engraftment* a la ausencia de integración de los neutrófilos en la sangre periférica al día 28 posterior al trasplante (o día 35 en trasplantes de sangre de cordón umbilical). Por otro lado, se habla de falla secundaria cuando, tras haberse logrado el prendimiento inicial, el *engraftment* pierde su función, lo que resulta en citopenias severas acompañadas de una médula ósea aplásica. Este tipo de complicación es característica del trasplante alogénico.

En comparación, en los trasplantes de órganos sólidos, la incidencia de rechazo es considerablemente alta, lo que obliga a mantener un tratamiento inmunosupresor de por vida. En el trasplante de células hematopoyéticas, dado que el sistema inmunológico del paciente es eliminado o gravemente suprimido, el rechazo del *engraftment* es un evento poco común. La incidencia de rechazo en trasplantes con donantes histoidénticos es aproximadamente del 4%, mientras que en el caso de trasplantes de sangre de cordón umbilical, asciende al 20%. Cuando se presenta este fenómeno, la mortalidad asociada es cercana al 50% (10).

Ahora bien, el rechazo del *engraftment* ocurre cuando, tras el trasplante, la médula ósea no se recupera de manera sostenida, o cuando la función medular se pierde tras un breve periodo de *engraftment*. En los trasplantes autólogos, esta falla puede deberse a una cantidad insuficiente de células madre trasplantadas, daño celular ocasionado durante el tratamiento o almacenamiento ex vivo, o por la exposición del paciente a agentes mielotóxicos después del procedimiento. Además, infecciones como las causadas por citomegalovirus (CMV) o el virus del herpes humano tipo 6 se han asociado a la pérdida de la función medular (20).

En los trasplantes alogénicos, el rechazo puede ser resultado de una reacción inmunológica del receptor, especialmente si se han utilizado regímenes preparatorios con menor inmunosupresión, si se eliminaron linfocitos T de las células madre trasplantadas o si existe una incompatibilidad de HLA entre donante y receptor, como ocurre con frecuencia en los trasplantes de sangre de cordón umbilical (20).

El tratamiento para el rechazo del engraftment suele consistir en la eliminación de medicamentos mielotóxicos y la administración de factores de crecimiento mieloide. La presencia de linfocitos del receptor en pacientes que experimentan fallos en el engraftment alogénico indica una reacción inmunológica adversa. En estos casos, un segundo trasplante de células madre del donante no suele ser efectivo a menos que esté precedido de un régimen inmunosupresor más intensivo. Sin embargo, los tratamientos convencionales con dosis altas son generalmente mal tolerados si se administran dentro de los 100 días posteriores al primer trasplante, debido a los efectos tóxicos acumulativos. En ciertos casos, combinaciones de medicamentos como fludarabina con radiación corporal total en dosis bajas, o ciclofosfamida con globulina antitimocítica, han demostrado ser eficaces (20).

En el presente estudio comparativo entre células criopreservadas y en fase líquida la comprensión del proceso del engraftment es útil para determinar cuál de las dos opciones presenta mayor éxito en el injerto y menores tasas de rechazo.

Criopreservación de Células Progenitoras Hematopoyéticas

Zavaleta y López (4) mencionan que la criopreservación es una técnica utilizada para preservar células, en este caso células progenitoras hematopoyéticas, mediante su congelación a temperaturas extremadamente bajas, entre $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, lo cual coincide con el punto de ebullición del nitrógeno líquido. Este proceso ralentiza las funciones celulares vitales, permitiendo que las células se mantengan en un estado de vida suspendida durante largos períodos, incluso años, sin perder su viabilidad.

La efectividad de la criopreservación de progenitores hematopoyéticos depende de varios factores clave: la concentración celular, la temperatura de almacenamiento, el tiempo transcurrido entre la obtención de las células y su congelación, la presencia de células maduras, y las manipulaciones realizadas antes del almacenamiento.

Una vez criopreservadas, las células pueden ser conservadas en vapor de nitrógeno o nitrógeno líquido a temperaturas por debajo de $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$, o en congeladores mecánicos a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Aunque a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una solución de crioprotección que contenga un 5% de DMSO (dimetilsulfóxido), las células pueden conservarse de manera satisfactoria por hasta seis meses, la mayoría de los laboratorios prefieren almacenar las células en nitrógeno líquido o su fase vapor a temperaturas inferiores a $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ para una preservación más prolongada. Estudios han demostrado que células almacenadas a $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$ pueden mantener su viabilidad y capacidad de diferenciación durante más de una década, e incluso más de 15 años.

El proceso de criopreservación incluye varias etapas: primero, la recepción de las células progenitoras obtenidas mediante aféresis, lo que implica una reducción inicial del volumen; luego, la adición de agentes crioprotectores para evitar daños durante el congelamiento; el proceso de congelación propiamente dicho, y finalmente, la evaluación de la viabilidad de las células congeladas antes de su almacenamiento definitivo. Este enfoque integral asegura la máxima preservación de las propiedades funcionales de las células para su uso futuro en trasplantes hematopoyéticos (4).

La criopreservación es una técnica utilizada para almacenar materiales biológicos a temperaturas extremadamente bajas, lo que ralentiza su degradación y minimiza la pérdida de funciones. Esta metodología tiene aplicaciones en diversos campos, como la investigación biológica, la agricultura, la industria alimentaria y la medicina. Al someter los materiales biológicos a temperaturas por debajo de $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$, se reduce considerablemente la energía cinética y el movimiento molecular, lo que a su vez disminuye la velocidad de las reacciones químicas y biológicas. Como consecuencia, procesos celulares esenciales como el metabolismo, el transporte activo, las reacciones enzimáticas y la difusión se ven ralentizados, permitiendo que el material biológico se mantenga en un estado de suspensión hasta que se restablezca la temperatura (21).

Aunque las temperaturas extremadamente bajas no provocan daños físicos directos, el proceso de congelación y descongelación puede generar efectos perjudiciales. Cuando las soluciones acuosas se enfrían por debajo de su punto de congelación, se forman cristales de hielo en el medio extracelular, lo que reduce la cantidad de agua disponible fuera de las células. A medida que se desarrollan estos cristales, los solutos previamente disueltos en la solución se concentran en los canales de agua restantes entre los cristales. Las células atrapadas en estos canales enfrentan un aumento progresivo en la concentración de solutos, lo que genera un gradiente osmótico a través de la membrana celular. Este gradiente provoca la deshidratación celular, lo que puede resultar en un choque osmótico y un incremento en la toxicidad para las células (21).

Durante la descongelación, las células deshidratadas pueden estar expuestas a volúmenes anormales de agua o soluciones tampón, lo que podría causar hinchazón y, eventualmente, lisis celular. Además, los cristales de hielo preexistentes pueden experimentar recristalización, un proceso en el cual los cristales más grandes crecen a costa de los más pequeños, aumentando así el daño mecánico. Para una descongelación exitosa, es esencial que el recalentamiento sea rápido y uniforme. Sin embargo, el método más comúnmente utilizado, que es el calentamiento externo, genera gradientes térmicos, ya que la parte exterior de la muestra se descongela más rápidamente que el interior. En contraste, el nanocalentamiento utiliza nanopartículas magnéticas expuestas a un campo magnético alterno, lo que facilita un recalentamiento homogéneo y rápido de muestras biológicas, incluidas las células madre pluripotentes inducidas humanas (21).

Es fundamental reconocer que la criopreservación puede modificar el fenotipo y la función celular tras el proceso de descongelación, lo que incluye alteraciones en los niveles de marcadores de superficie y cambios en la expresión génica a largo plazo. Como resultado, se han diseñado cada vez más ensayos para evaluar la calidad celular posterior a la descongelación, abarcando aspectos como la integridad de la membrana, los mecanismos moleculares, la funcionalidad celular y las modificaciones bioquímicas (21).

Aunque la criopreservación ofrece ventajas logísticas, como la posibilidad de realizar trasplantes diferidos, también se asocia con una disminución en la viabilidad y proliferación

celular tras la descongelación. Este aspecto debe ser comparado con la superioridad funcional observada en las células en fase líquida.

Trasplante de células en fase líquida

El trasplante de células en fase líquida es un método avanzado dentro del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH). A diferencia del uso de células extraídas directamente de la médula ósea, las células hematopoyéticas obtenidas de sangre periférica en fase líquida son recolectadas mediante un proceso conocido como aféresis, que facilita la movilización de las células madre a través del torrente sanguíneo. Este enfoque ha demostrado ser eficaz, ya que las células madre de sangre periférica permiten una recuperación hematopoyética (22).

El procedimiento se utiliza ampliamente en trasplantes autólogos y alogénicos. En los autólogos, las propias células del paciente son recolectadas, tratadas y luego reinfundidas tras un régimen de quimioterapia intensiva. Esto permite lo que se conoce como "rescate hematopoyético", evitando complicaciones graves de inmunosupresión prolongada (23).

Este procedimiento permite restaurar la función de la médula ósea y la producción de células sanguíneas, minimizando así los riesgos asociados con una inmunosupresión prolongada que se observa en los trasplantes alogénicos, donde el receptor recibe células de un donante. Al evitar la necesidad de un sistema inmunológico completamente suprimido, se reducen las complicaciones graves como infecciones o rechazos, lo que proporciona al paciente una recuperación más rápida y una mejor calidad de vida post-trasplante. Este tipo de trasplante se ha consolidado como una opción terapéutica preferida en el manejo de ciertos cánceres hematológicos, demostrando su eficacia en la prolongación de la supervivencia y la mejora de los resultados clínicos (23)

La importancia del trasplante de células en fase líquida radica en su capacidad para reducir las complicaciones relacionadas con la toxicidad y mejorar la calidad de vida post-trasplante. Estudios recientes han demostrado que el trasplante de células hematopoyéticas de sangre

periférica, especialmente cuando se combinan con regímenes de acondicionamiento no mieloablativos, resulta en mejores tasas de engraftment y menores complicaciones (22).

De acuerdo con lo anterior, las células en fase líquida se utilizan directamente después de su recolección, eliminando la necesidad de procesos de congelación y descongelación. Esto asegura una mayor viabilidad y funcionalidad celular, lo que puede traducirse en mejores resultados clínicos. No obstante, las limitaciones incluyen la dependencia de sincronización entre el donante y el receptor, así como la logística compleja para garantizar la frescura de las células. Es por ello que la comparación entre células criopreservadas y en fase líquida es propicia por cuanto los hallazgos podrían servir para optimizar los resultados en el trasplante de CPH.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio observacional, longitudinal, analítico y retrospectivo, basado en las historias clínicas de pacientes con diagnóstico de trastornos hematológicos que requirieron trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Los datos analizados corresponden al período comprendido entre los años 2014 y 2019, y fueron obtenidos de los registros informatizados de un Hospital, ubicado en la ciudad de Buenos Aires, Argentina.

La base de datos utilizada contiene información detallada sobre la viabilidad de las células trasplantadas, el engraftment tanto a nivel de neutrófilos como de plaquetas, y el soporte transfusional recibido por los pacientes, el cual incluye transfusiones de glóbulos rojos, plaquetas, plasma y viabilidad celular al momento del trasplante. Estas variables fueron registradas para cada tipo de tratamiento realizado en los pacientes incluidos en el estudio.

La población se conformó por las historias clínicas de pacientes con mielomas múltiples autólogos, que recibieron trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas con células criopreservadas y células en fase líquida. La muestra quedó establecida por 48 pacientes, de los cuales 24 recibieron trasplantes de CPH en fase líquida (12 hombres y 12 mujeres), mientras que los otros 24 fueron trasplantados con CPH provenientes de células criopreservadas (7

hombres y 17 mujeres), en células FL la cantidad de transfusiones fue de 33 GR, 258 PQ y 2 PF, en células CRIO, 48 GR, 408 PQ y 3 PF . Las historias clínicas seleccionadas cumplieron con los criterios establecidos.

Los criterios de inclusión para el análisis consideraron pacientes que:

1. Recibieron trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el servicio de Trasplante y Hemoterapia durante el periodo señalado.
2. Tuviesen datos completos en las historias clínicas electrónicas respecto a las variables de interés (soporte transfusional y resultados de engraftment).
3. No presentaran enfermedades concomitantes que dificultaran la evaluación del proceso trasplantológico.

Entre las variables que se analizaron, se incluyeron:

- Número de transfusiones de glóbulos rojos (Tx Glob. rojos).
- Número de transfusiones de plaquetas (Tx Plaquetas).
- Número de transfusiones de plasma (Tx Plasma).
- Engraftment de neutrófilos (Engraf. Neutr.).
- Engraftment de plaquetas (Engraf. Plaq.).
- Viabilidad celular en ambos métodos

El estudio fue desarrollado de acuerdo con los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki, que guían la investigación médica en seres humanos. Dado que se trató de un análisis retrospectivo, en el cual los datos de los pacientes fueron extraídos de las historias

clínicas electrónicas, se solicitó al Comité de Ética del Hospital la exención de la obtención de consentimiento informado, lo cual fue aprobado por dicho comité.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el software SPSS. Para comparar el requerimiento transfusional entre los dos grupos (células criopreservadas y células en fase líquida), se realizó la prueba no paramétrica test de Mann-Whitney U debido a que los datos no tenían una distribución normal. Las variables que se analizaron fueron el número de transfusiones de glóbulos rojos, plaquetas y plasma (Tx Glob. rojos, Tx Plaquetas, Tx Plasma). Se calcularon medidas descriptivas como medias, medianas, desviaciones estándar y rangos intercuartílicos para cada tipo de transfusión en ambos grupos.

Para evaluar y describir el tiempo de engraftment (neutrófilos y plaquetas) en los pacientes que recibieron trasplantes de células criopreservadas versus aquellos que recibieron células en fase líquida, se procedió de manera similar a la del análisis del requerimiento transfusional, es decir, se aplicó el test de Mann-Whitney U, para comparar el tiempo de engraftment (Engraf. Neutr. y Engraf. Plaq.) entre ambos grupos.

Resultados

Requerimiento transfusional: criopreservadas vs. fase líquida

Tabla 1. Requerimiento transfusional

Tipo trasplante			Tx Glob. rojos	Tx Plaquetas	Tx Plasma
Fase líquida	N	Válido	24	24	1
		Perdidos	0	0	23
	Media		1,38	11	2
	Mediana		0	8,50	2
	Desv. Desviación		2,43	9,08	
	Rango		11	39	0
Criopreservadas	N	Válido	24	24	1
		Perdidos	0	0	23
	Media		2	17,42	3
	Mediana		2	13,50	3
	Desv. Desviación		2,41	16,13	
	Rango		11	67	0

Los pacientes que recibieron glóbulos rojos criopreservados requirieron un promedio de 2 transfusiones, asimismo, la mediana fue igual a 2, indicando que al menos la mitad de estos pacientes requirió dos transfusiones. En cuanto a los pacientes que recibieron glóbulos rojos en fase líquida el promedio fue de 1.38 transfusiones, la mediana fue de 0, lo cual indica que más de la mitad de estos pacientes no necesitaron transfusiones adicionales. La variabilidad en el número de transfusiones de glóbulos rojos fue similar en ambos grupos, como lo demuestra la desviación estándar.

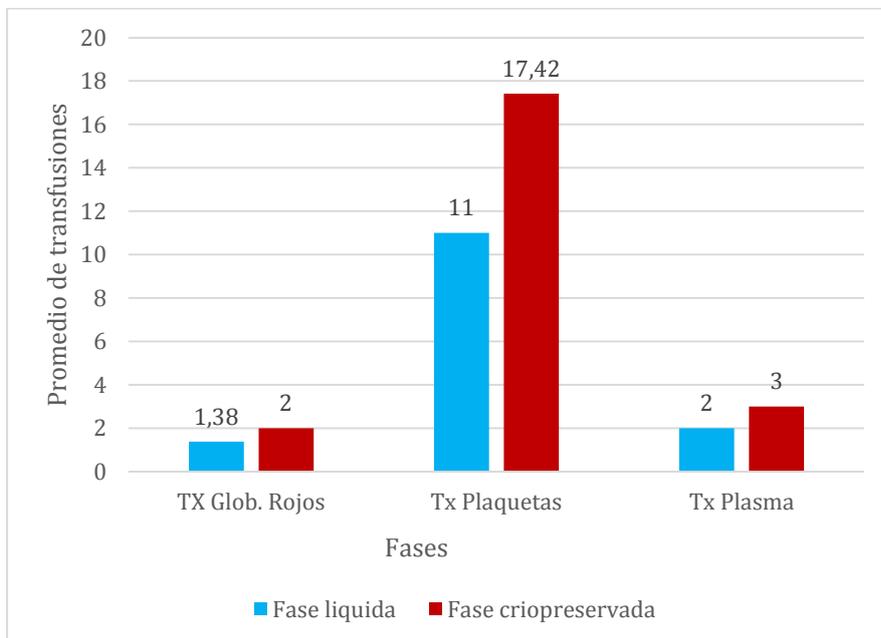
Respecto a las transfusiones de plaquetas, el grupo de células criopreservadas tuvo un requerimiento mayor de plaquetas (media=17,42 transfusiones) en comparación con el grupo de fase líquida (media=11). Las medianas (13,50 en criopreservadas y 8,50 en fase líquida)

también indican que los pacientes que recibieron células criopreservadas tienden a necesitar más transfusiones de plaquetas. La desviación estándar en el grupo de criopreservadas es considerablemente mayor (16,13 frente a 9.08 en fase líquida), lo que indica una mayor variabilidad en el número de transfusiones de plaquetas entre estos pacientes. El rango también muestra que la dispersión es mucho mayor en el grupo de criopreservadas, lo que refuerza la variabilidad en las necesidades de transfusión.

Las transfusiones de plasma evidencia pocos datos disponibles en ambos grupos (solo 1 valor válido en cada grupo), lo que limita la interpretación. El único valor disponible indica que los pacientes que recibieron células criopreservadas requerían una transfusión de plasma ligeramente superior (media=3) que los de fase líquida (media=2).

De acuerdo con lo anterior, en el siguiente gráfico se observa que la fase criopreservada requiere mayores transfusiones en todas las categorías, sobre todo en plaquetas.

Gráfico 1. Comparación soporte transfusional según fases de preservación



Debido a que los datos no cumplieron con los criterios de normalidad, se optó por realizar pruebas no paramétricas, siendo la más adecuada el test de U de Mann Whitney.

Tabla 2. Test de Mann-Whitney sobre Requerimientos de Transfusiones entre Grupos de Trasplante

Estadísticos de prueba^a			
	Tx Glob. rojos	Tx Plaquetas	Tx Plasma
U de Mann-Whitney	219,500	213,000	,000
W de Wilcoxon	519,500	513,000	1,000
Z	-1,504	-1,551	-1,000
Sig. asintótica(bilateral)	,133	,121	,317
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]			1,000 ^b

a. Variable de agrupación: Tipo trasplante

b. No corregido para empates.

Los resultados sugieren que no hay diferencias estadísticamente significativas en los requerimientos de transfusiones de glóbulos rojos ($0,133 > 0,05$), plaquetas ($0,121 > 0,05$) y plasma ($0,317 > 0,05$) entre los grupos de pacientes que recibieron células criopreservadas y aquellos que recibieron células en fase líquida.

Tiempo para el engraftment: criopreservadas vs. fase líquida

Tabla 3. Tiempo para el engraftment

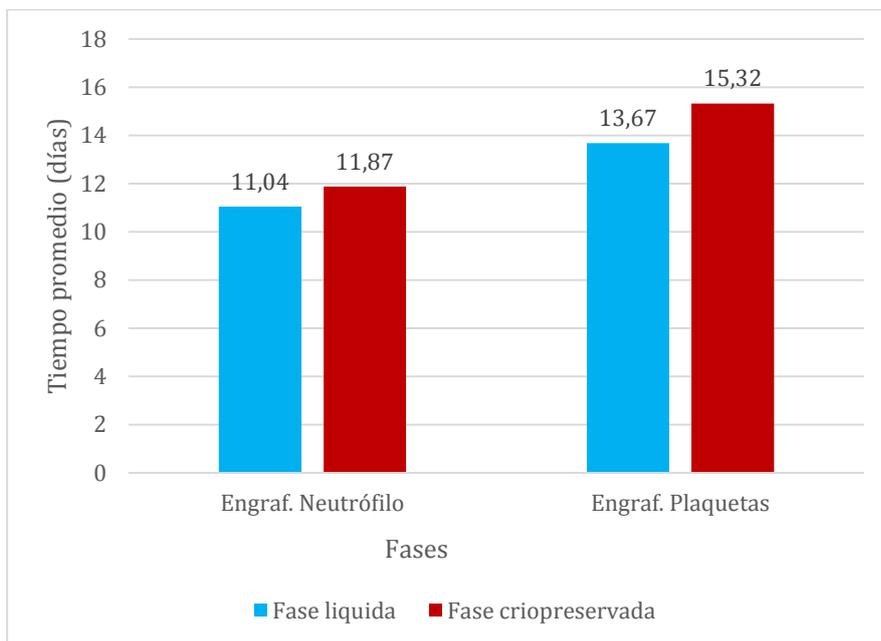
Tipo trasplante			Engraf Neutrof	Engraf Plaq
Fase líquida	N	Válido	24	24
		Perdidos	0	0
	Media	11,04	13,67	
	Mediana	11	12,50	
	Desv. Desviación	1,73	3,74	
	Rango	8	13	
	Percentiles	25	10	11
		50	11	12,5
		75	11,75	14,75
Criopreservadas	N	Válido	23	22
		Perdidos	1	2
	Media	11,87	15,32	
	Mediana	12	14	
	Desv. Desviación	1,392	5,195	
	Rango	5	24	
	Percentiles	25	11	12,75
		50	12	14
		75	13	15

El tiempo promedio para el engraftment de neutrófilos fue ligeramente mayor en los pacientes que recibieron células criopreservadas (media=11,87 días, mediana=12 días) en comparación con los pacientes de fase líquida (media=11,04 días, mediana=11 días). Aunque la diferencia en los tiempos promedio es pequeña, indica que en los pacientes con tipo de trasplante con células criopreservadas la tendencia fue a experimentar el engraftment de neutrófilos de forma más lenta. La variabilidad en los tiempos también fue menor en el grupo de criopreservadas (desviación estándar=1,39) en comparación con el grupo de fase líquida (desviación estándar=1,73), lo que sugiere mayor uniformidad en el tiempo de engraftment en los pacientes de células criopreservadas. En el grupo de fase líquida, el 25% de los pacientes alcanzó el injerto en 11 días, el 50% (mediana) lo logró en 12,5 días y el 75% alcanzó el engraftment en 14,75 días. En el grupo de células criopreservadas, el 25% de los pacientes obtuvo el engraftment en 11 días, el 50% (mediana) lo logró en 12 días y el 75% en 13 días.

El tiempo promedio para el engraftment de plaquetas también fue mayor en el grupo de células criopreservadas (media=15,32 días, mediana=14 días) en comparación con el grupo de fase líquida (media=13,67 días, mediana=12,5 días). Esto sugiere que los pacientes que recibieron células en fase líquida alcanzaron el engraftment de plaquetas de manera más rápida. La variabilidad fue mayor en el grupo de criopreservadas (desviación estándar=5,19) que en el grupo de fase líquida (desviación estándar=3,74), lo que indica que el tiempo de engraftment de plaquetas es más inconsistente en los pacientes con células criopreservadas. En el grupo de células criopreservadas, el 25% de los pacientes alcanzó el engraftment de plaquetas en 12,75 días, el 50% lo logró en 14 días y el 75% en 15 días. Por otro lado, en el grupo de fase líquida, el 25% de los pacientes alcanzó el engraftment en 11 días, el 50% en 12,5 días y el 75% lo logró en 14,75 días.

En el siguiente gráfico se observa que el tiempo promedio es más prolongado en la fase de criopreservación, tanto en neutrófilos como en plaquetas, en comparación con la fase líquida.

Gráfico 2. Comparación tiempo para el engraftment según fases de preservación



Dado que los datos no siguen una distribución normal, para el análisis estadístico se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney

Tabla 4. Test de Mann-Whitney para Engraftment de Neutrófilos y Plaquetas entre Grupos de Trasplante

Estadísticos de prueba^a		
	Engraf Neutrof	Engraf Plaq
U de Mann-Whitney	168,000	184,500
W de Wilcoxon	468,000	484,500
Z	-2,359	-1,766
Sig. asintótica(bilateral)	,018	,077

a. Variable de agrupación: Tipo trasplante

Hay una diferencia estadísticamente significativa para el engraftment de neutrófilos entre los dos grupos de trasplante (criopreservadas y fase líquida) ($0,018 < 0,05$). Al comparar las medianas, el grupo de Criopreservadas presenta una mediana de 12,00, superior a la mediana de 11,00 del grupo Fase Líquida, lo que sugiere que el trasplante con células criopreservadas es menos efectivo en términos de tiempo de engraftment de neutrófilos. Por otra parte, no hay suficiente evidencia para afirmar que existe una diferencia significativa en el tiempo de engraftment de plaquetas entre los dos grupos, ya que ($0,077 > 0,05$).

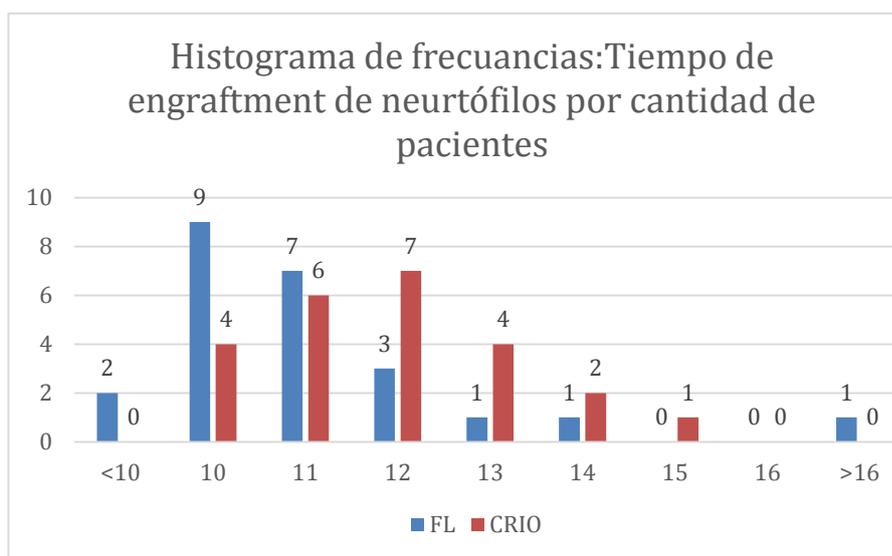
Histograma de frecuencias Engraftment de neutrófilos

% de pacientes con engraftment <12 días

FL	CRIO
75	41,7
18 de 24	10 de 24

Diferencia estadísticamente significativa Fisher exact test ($p < 0,05$)

Gráfico 3. Tiempo de engraftment de neutrófilos por cantidad de pacientes.



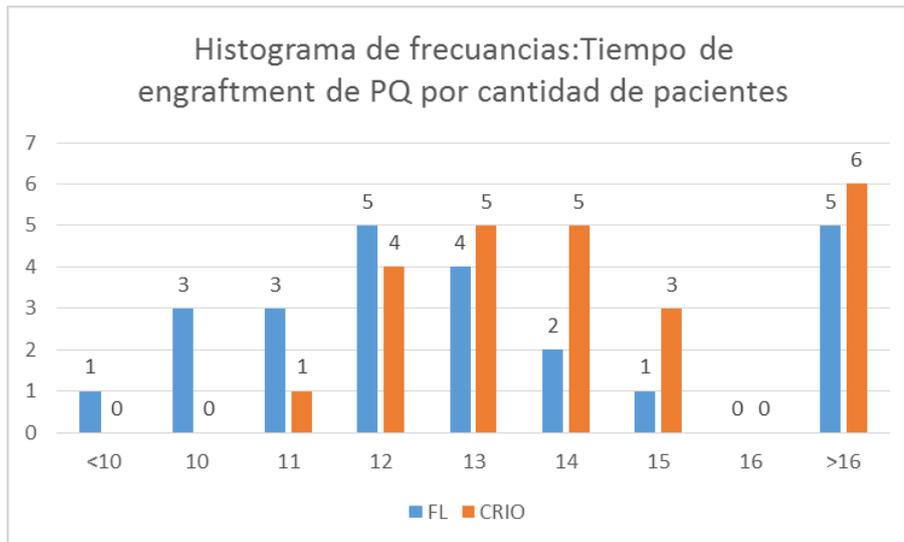
Histograma de frecuencias Engraftment de PQ

% de pacientes con engraftment <13 días

FL	CRIO
50	20,8
12 de 24	5 de 24

Fisher exact test no significativa ($p > 0,05$)

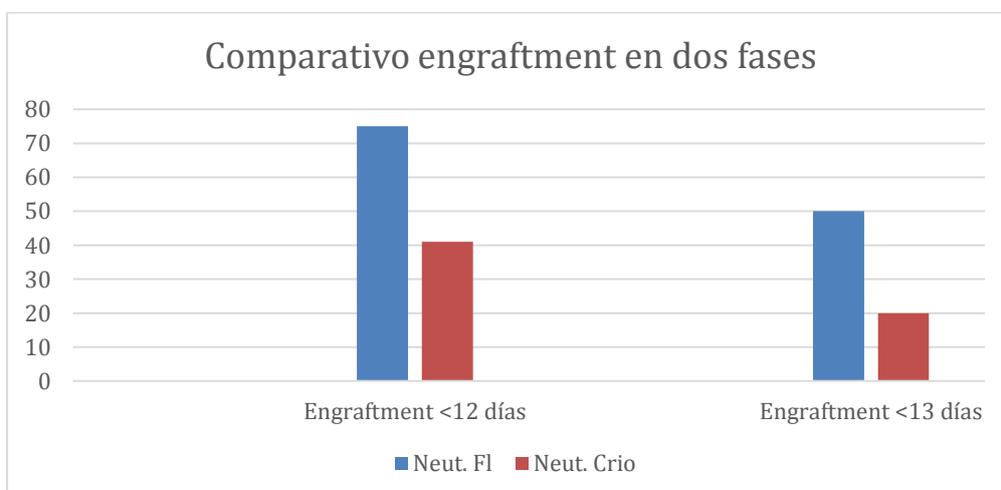
Gráfico 3. Tiempo de engraftment de plaquetas por cantidad de pacientes.



La relación entre los tiempos promedio de engraftment de neutrófilos de las dos fases puede expresarse como aproximadamente en 75%, Fase líquida, mientras que criopreservadas fue del 41,7%, más detalladamente 18 de 24 pacientes trasplantados en fl tuvieron un engraftmet menor a 12 días y 10 de 24 pacientes tuvieron un engraftment menor a 12 días.

Para una mejor visualización se muestra el gráfico 4 a modo comparativo entre las dos fases de preservación, observando que el tiempo promedio de engraftment es menor en la fase líquida respecto a la fase criopreservada.

Gráfico 4: Comparativo engraftment en dos fases



En otras palabras, la criopreservación prolonga el tiempo de engraftment tanto de plaquetas como de neutrófilos, por lo cual se recomienda considerar la elección del método de preservación de acuerdo con el contexto clínico. De acuerdo a el test de fisher exact podemos observar ($p < 0,05$) lo que nos indica una alta significancia estadística respecto a los tiempos de engraftment.

Relación entre el requerimiento transfusional y el tiempo de engraftment: criopreservadas vs. fase líquida.

Tabla 5. Correlación entre requerimiento transfusional y tiempo de engraftment de Neutrófilos por tipo de trasplante

		Tipo trasplante		Requer_transfu	Tiempo Engraf Neutrof
Rho de Spearman	Fase líquida	Requer_transfu	Coeficiente de correlación	1,000	,119
			Sig. (bilateral)	.	,579
		N	24	24	
		Tiempo engraf Neutrof	Coeficiente de correlación	,119	1,000
		Sig. (bilateral)	,579	.	
		N	24	24	
	Criopreservadas	Requer_transfu	Coeficiente de correlación	1,000	,053
			Sig. (bilateral)	.	,809
N		24	23		
Tiempo engraf Neutrof		Coeficiente de correlación	,053	1,000	
	Sig. (bilateral)	,809	.		
	N	23	23		

Tanto en el grupo Fase líquida como en el grupo Criopreservadas, las correlaciones entre el requerimiento transfusional y el tiempo de engraftment de neutrófilos son muy bajas (0,119

en fase líquida y 0,053 en criopreservadas) y no alcanzan niveles de significancia estadística ($p > 0,05$), lo cual sugiere que no hay una relación significativa entre estas dos variables en ninguno de los grupos estudiados.

Tabla 6. Correlación entre requerimiento transfusional y tiempo de engraftment de plaquetas por tipo de trasplante

Tipo trasplante		Requer_trans	Tiempo Engraf
		fu	plaquet
Rho de Spearman	Fase líquida	Requer_trans	1,000
		Coeficiente de correlación	,341
	Sig. (bilateral)	.	
	N	24	
Criopreservadas	Tiempo engraf Plaquet	Coeficiente de correlación	1,000
		Sig. (bilateral)	.
	Sig. (bilateral)	,103	
	N	24	
Fase líquida	Requer_trans	Coeficiente de correlación	,336
		Sig. (bilateral)	,126
	Sig. (bilateral)	.	
	N	22	
Criopreservadas	Tiempo engraf Plaquet	Coeficiente de correlación	1,000
		Sig. (bilateral)	.
	Sig. (bilateral)	,126	
	N	22	

En ambos grupos (fase líquida y criopreservadas), la correlación entre el requerimiento transfusional y el tiempo de engraftment de plaquetas es positiva y moderada (coeficientes de 0,341 y 0,336, respectivamente). Sin embargo, en ninguno de los dos casos la correlación es estadísticamente significativa ($p > 0,05$), lo que sugiere que no hay una relación significativa entre estas dos variables en ninguno de los grupos. Aunque hay una tendencia hacia una correlación moderada, los resultados no son concluyentes.

Comparación del rendimiento general de los trasplantes con células criopreservadas y en fase líquida en función de las cantidades de transfusiones y los días de engraftment.

Tabla 6. Comparación de trasplantes: Células crio y en fase líquida

Indicador	Trasplante Fase Líquida	Trasplante Criopreservado	Conclusiones
Transfusiones			
Tx. Glóbulos Rojos	Media: 1,38 / Mediana: 0 / Desv. Est.: 2,43	Media: 2 / Mediana: 2 / Desv. Est.: 2,41	No hay diferencia significativa (U=219,5; p=0,133), pero criopreservadas tienden a más transfusiones.
Tx. Plaquetas	Media: 11 / Mediana: 8,5 / Desv. Est.: 9,08	Media: 17,42 / Mediana: 13,5 / Desv. Est.: 16,13	No hay diferencia significativa (U=213, p=0,121), pero criopreservadas requieren más transfusiones.
Tx. Plasma	Media: 2 / Mediana: 2 (solo 1 caso disponible)	Media: 3 / Mediana: 3 (solo 1 caso disponible)	Insuficiente información para comparaciones concluyentes.
Tempo de Engraftment			
Engraftment Neutrófilos	Media: 11,04 días / Mediana: 11 / Desv. Est.: 1,73	Media: 11,87 días / Mediana: 12 / Desv. Est.: 1,39	Tiempo de engraftment más rápido en fase líquida (U=168, p=0,018; significativo).
Engraftment Plaquetas	Media: 13,67 días / Mediana: 12,5 / Desv. Est.: 3,74	Media: 15,32 días / Mediana: 14 / Desv. Est.: 5,20	Tendencia a tiempo de engraftment más rápido en fase líquida, pero no significativo (U=184,5; p=0,077).
Correlación Requerimiento Transfusional y tiempo de engraftment Neutrófilos	Correlación no significativa (r=0.119, p=0.579)	Correlación no significativa (r=0.053, p=0.809)	No hay correlación entre transfusiones y tiempo de engraftment de neutrófilos en ambos métodos.
Correlación Requerimiento Transfusional y tiempo de engraftment Plaquetas	Correlación no significativa (r=0.341, p=0.103)	Correlación no significativa (r=0.336, p=0.126)	No hay correlación entre transfusiones y tiempo de engraftment de plaquetas en ambos métodos.

Al comparar ambos grupos de trasplante, se encontró que el trasplante con células en fase líquida mostró un engraftment de neutrófilos significativamente más rápido ($p=0.018$). Si bien el engraftment de plaquetas también mostró una tendencia hacia ser más rápido en este grupo ($p=0.077$), esta diferencia no alcanzó significancia estadística.

Respecto al requerimiento transfusional, los trasplantes con células criopreservadas tendieron a requerir un mayor número de transfusiones de glóbulos rojos y plaquetas, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

El análisis de correlación no reveló una asociación entre el requerimiento transfusional y el tiempo de engraftment.

Estos hallazgos sugieren que el trasplante en fase líquida podría optimizar la recuperación hematopoyética post-trasplante, especialmente en términos de engraftment de neutrófilos.

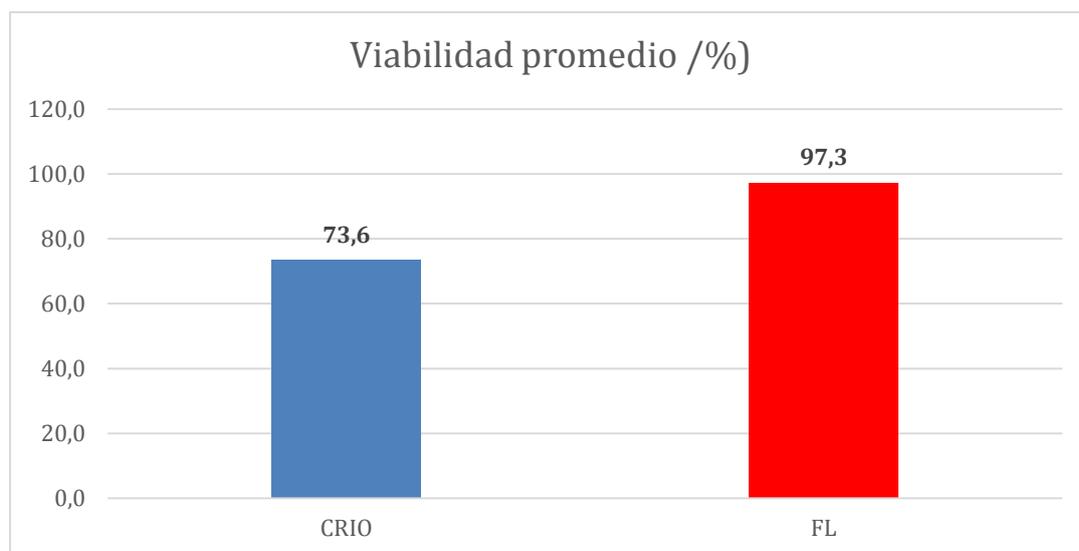
Viabilidad de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH)

Cálculo de la viabilidad en términos de porcentaje:

Pruebas T para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	CRIO	FL
Viabilidad Promedio	73.6	97.3
DS	10.9	2.3
	$p<0,0001$	

Gráfico 5 Comparativo viabilidad en fase líquida y criopreservada.



Los resultados de la evaluación de viabilidad celular mostraron datos relevantes para la evaluación de la calidad de las células utilizadas al momento del trasplante de médula, ya que la viabilidad es un factor crítico para el éxito del mismo, si bien estos datos indican superioridad en fase líquida, las células criopreservadas también presentaron resultados aceptables, lo cual sería una buena opción en tratamientos en donde la quimioterapia sea más prolongada y el trasplante se deba hacer luego de las 72 hs.

Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio indican que el trasplante con células en fase líquida tiende a favorecer un engraftment de neutrófilos más rápido en comparación con el trasplante de células criopreservadas. Esto es consistente con los hallazgos de Guo et al. (24), quienes también observaron una tendencia hacia un engraftment de neutrófilos más lento en los pacientes que recibieron células criopreservadas, especialmente en aquellos con características citogenéticas adversas. La diferencia estadísticamente significativa en el engraftment de neutrófilos en nuestro estudio ($p = 0,018$) sugiere que las células en fase líquida podrían proporcionar un entorno más favorable para la recuperación hematopoyética inicial, similar a lo descrito por Maurer et al. (25), quienes reportaron un engraftment más rápido en trasplantes con células no criopreservadas.

El requerimiento transfusional de glóbulos rojos y plaquetas fue mayor en el grupo de células criopreservadas, lo que coincide con lo reportado por Dagdas et al. (26) y Ersal et al. (27), quienes también encontraron que los pacientes que recibieron células criopreservadas tendieron a necesitar más transfusiones de productos sanguíneos. Sin embargo, en nuestro estudio, estas diferencias no alcanzaron significancia estadística ($p > 0,05$), lo cual difiere parcialmente de los resultados de Maurer et al. (25), quienes reportaron diferencias significativas en el engraftment de plaquetas entre los grupos de trasplante. Este resultado podría estar influenciado por factores adicionales, como las características del paciente o las condiciones específicas de almacenamiento y transporte de las células, tal como lo sugieren Facchin et al. (28).

A pesar de que el tiempo de engraftment de plaquetas fue más largo en el grupo de células criopreservadas, con una mediana de 14 días frente a 12,5 días en el grupo de fase líquida, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,077$). Esto es consistente con los hallazgos de Dagdas et al. (26), quienes tampoco encontraron diferencias significativas en los tiempos de engraftment de plaquetas entre los dos grupos. Sin embargo, estudios como el de Ersal et al. (27) y Maurer et al. (25) han demostrado un engraftment de plaquetas más lento en pacientes con trasplantes de células criopreservadas, lo que sugiere que, si bien la tendencia es clara, la variabilidad en los datos puede influir en la significancia estadística en estudios con muestras más pequeñas.

Respecto a los datos obtenidos indicaron que el tiempo promedio de engraftment en la fase líquida es de 12,35 días, en contraste con los 14,05 días de la fase criopreservada. Esta diferencia en los tiempos de engraftment sugiere que la fase líquida no solo es más eficiente, sino que también puede ofrecer resultados más predecibles en términos de viabilidad celular.

Asimismo, la viabilidad relativa calculada para la fase criopreservada, que alcanza aproximadamente un 113,78% del tiempo de engraftment de la fase líquida, pone de manifiesto que, aunque el engraftment en la fase criopreservada es posible, requiere un tiempo adicional que podría ser crítico en aplicaciones clínicas donde el tiempo de respuesta es esencial. Esta observación plantea interrogantes sobre la conveniencia del uso de células en fase líquida frente a aquellas criopreservadas, particularmente en situaciones donde una rápida integración celular es deseable.

Es importante mencionar que la hipótesis inicial, se confirma para el presente estudio, la rapidez en el tiempo de engraftment de las células en fase líquida, así como también, una menor necesidad de requerimientos de transfusiones y la viabilidad fue mayor también en esta fase, esto refuerza la idea de que este enfoque es más conveniente y práctico para aplicaciones clínicas.

De acuerdo con lo señalado, nuestros resultados refuerzan la idea de que el trasplante con células en fase líquida podría ofrecer ventajas en términos de tiempo de engraftment de neutrófilos, como lo señalan varios autores en la literatura. Sin embargo, la variabilidad observada en el tiempo de engraftment de plaquetas y los requerimientos transfusionales sugiere que es necesario realizar más investigaciones para aclarar las diferencias en el comportamiento hematopoyético post-trasplante entre los dos tipos de células, especialmente en lo que respecta a las necesidades de transfusión, donde los resultados actuales no alcanzan significancia estadística. Esto podría estar relacionado con la calidad de las células criopreservadas, las condiciones clínicas del paciente o las particularidades del manejo post-trasplante, factores que podrían ser abordados en estudios futuros con muestras más amplias.

Conclusión

Esta investigación permitió responder adecuadamente a los objetivos planteados, aportando una visión sobre los requerimientos transfusionales y el tiempo de engraftment en los pacientes que recibieron trasplantes con células criopreservadas y células en fase líquida.

En cuanto al requerimiento transfusional, se observó una tendencia hacia una mayor necesidad de transfusiones de glóbulos rojos y plaquetas en los pacientes que recibieron células criopreservadas. Si bien las diferencias no alcanzaron significación estadística, estos resultados son consistentes con estudios previos que han reportado una mayor demanda transfusional en este grupo, lo que sugiere una ligera desventaja de soporte de hemocomponentes en los trasplantes con células criopreservadas.

Respecto al tiempo requerido para el engraftment, se encontró una variabilidad considerable en los tiempos, tanto para neutrófilos como para plaquetas. Si bien se observó una tendencia hacia un engraftment ligeramente más rápido en los pacientes que recibieron células en fase líquida, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Se concluye que, con base en los datos actuales, no es posible establecer una superioridad clara entre ambos grupos en términos de tiempo de engraftment. Estudios futuros con mayor poder estadístico podrían ayudar a dilucidar si existen diferencias clínicamente relevantes.

En relación con el tercer objetivo, se examinó la relación entre el requerimiento transfusional y el tiempo de engraftment. Aunque existe una correlación entre un mayor requerimiento transfusional y un tiempo de engraftment más prolongado en el grupo de células criopreservadas, esta relación no resultó ser concluyente. A pesar de la tendencia observada, los análisis estadísticos no revelaron una asociación significativa, lo que indica que otros factores pueden estar influyendo en el engraftment y en las necesidades transfusionales, más allá del tipo de producto celular trasplantado.

En cuanto a la viabilidad celular obtuvimos resultados alentadores, debido a la diferencia aumentada de células viables respecto de las criopreservadas, debido al menor daño por congelación, en cambio las células conservadas a 4° C se encuentran en un estado más estable ya que no habrá formación de cristales de hielo lo cual es la principal causa de daño celular, las CPH en fase líquida no están sometidas a los cambios osmóticos y mecánicos que ocurren durante la congelación y el descongelamiento, también habrá una mejor función hematopoyética ya que a 4° C mantienen esta función.

Finalmente, al comparar el rendimiento general de los trasplantes con células criopreservadas y en fase líquida, los datos sugieren que los trasplantes con células en fase líquida podrían ofrecer mejores resultados en cuanto a un engraftment de neutrófilos y plaquetas más rápido, y a una menor demanda transfusional, presentando un mayor porcentaje de células viables en el caso de las CPH en fase líquida. No obstante, las diferencias encontradas no fueron lo suficientemente significativas como para determinar con absoluta certeza la superioridad de un método sobre el otro, con respecto a la cantidad de transfusiones y tiempo de engraftment, pero si fue estadísticamente significativa la viabilidad entre un tipo de trasplante y otro. Es necesario

considerar que ambos métodos de trasplante demostraron ser efectivos y seguros, y que la elección entre ellos puede depender de factores logísticos y clínicos específicos, más que de una diferencia marcada en los resultados clínicos. En este sentido, se recomienda realizar estudios adicionales con muestras más grandes para profundizar en la relación entre el tipo de producto celular y los resultados clínicos a largo plazo, así como también abordar otras variables, como las características del paciente, la dosis celular y algo muy importante a tener en cuenta son las condiciones estructurales de cada centro asistencial, debido a la consideración económica que se presente como para poder abordar un método con menos requerimientos de insumos como sería la fase líquida y un método de criopreservación en donde debemos evaluar la parte edilicia, estructura y economía del servicio para la preparación de la misma, para comprender mejor las diferencias observadas.

Referencias bibliográficas

1. Jaimovich G, Fernandez N, Requejo A, Brioschi S, Puente D, Bonini N, et al. Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas de Donante no relacionado en 61 Pacientes. Período 2004 - 2010. Hematología. 2012; 16(2): p. 69-78.
2. Nanni M. Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) en Argentina: relevancia de la edad, el sexo y el peso de los donantes de CPH en trasplante no relacionado. [Online].; 2018. Available from: http://repositorio.ucu.edu.ar/bitstream/handle/522/541/2018_NANNI-Mar%20Flores%20Trasplante%20de%20C%20c%20a%20lulas%20Progenitoras%20hematopoy%20c%20a%20ticas%2028CPH%29%20en%20Argentina.pdf?sequence=1.
3. Saldaña L&VD, Maldonado B, Alfaro M. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. In Herrera-Gómez Á, Ñamendys-Silva S, Meneses-García A(). Manual de Oncología, 6ta edición.: McGraw-Hill Education; 2018.
4. Zavaleta A, López J. Ministerio de Salud. Perú. [Online].; 2019. Available from: https://www.bing.com/search?q=Gu%C3%ADa+de+Procedimiento%3A+Criopreservaci%C3%B3n+de+C%C3%A9lulas+Progenitoras+Hematopoy%C3%A9ticas&cvid=c30a591a9788415cbcd82d34dcc02ff8&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyBggAEEUYOdIBCDIwMDVqMGo5qAIIsAIB&FORM=ANAB01&PC=U531.
5. Salinero M. Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca. [Online].; 2013. Available from: <https://hematosalamanca.es/wp-content/uploads/2020/10/Manual-de-TPH-para-pacientes-donantes-y-cuidadores.pdf>.
6. Hechler G, Weide R, Heymanns J, Havemann K. Storage of noncryopreserved peripheral blood stem cells for transplantation. Ann Hematol. 1996; 72(5): p. 303-6.

7. Al-Anazi K. Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Multiple Myeloma without Cryopreservation. *Bone Marrow Res.* 2012; 2012.
8. Berz D, McCormack E, Winer E, Colvin G, Quesenberry P. Cryopreservation of hematopoietic stem cells. *Soy J Hematol.* 2007; 8(6): p. 463-72.
9. Karduss-Urueta A. ¿Es necesario seguir criopreservando las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) para el autotrasplante ?... NO. *Hematología. Extraordinario 1er Congreso Argentino de Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas.* 2017; 21(1): p. 31-34.
10. Berro M. (Trabajo de grado). Universidad Austral. Argentina. [Online].; 2019.
11. Pantoja M, Romero H, Rodríguez J. Artículo de revisión medigraphic.com. [Online].; 2015. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2015/muv151d.pdf>.
12. Rifón J. Trasplante de progenitores hemopoyéticos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra.* 2006; 29(2): p. 137-151.
13. Pasquini M, Wang Z. Current Use and Outcome of Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Part I—Cibmtr Summary Slides. *CIBMTR Newsletter [Serial Online].* 2009; 15: p. 7-11.
14. Copelan E. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2006; 354(17): p. 1813-26.
15. Majhail N, Farnia S, Carpenter P, Champlin R, Crawford S, Marks D, 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(11): p. 1863-1869.
16. Luznik L, O'Donnell P, Symons H, Chen A, Susan M, Zahurak M, et al. HLA-Haploidentical Bone Marrow Transplantation for Hematologic Malignancies Using Nonmyeloablative Conditioning and High-Dose, Posttransplan. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2008; 14(6): p. 41-650.
 17. McKenna D, Brunstein C. Umbilical cord blood: current status and future directions. *Vox Sang*. 2011; 100(1): p. 150-62.
 18. Champlin R, Schmitz N, Horowitz M, Chappuis B, Chopra R, Cornelissen J, et al. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. *Blood*. 2000; 95(12): p. 3702-3709.
 19. Zander A, Lioznov M, Ikogho R, Fehse B, Kroeger N. Engraftment after Haematopoietic Stem Cell Transplantation: Which Predictors Are Most Important?. *Blood*. 2007; 110(11): p. 4947.
 20. Appelbaum F. Trasplante de células hematopoyéticas. In Larry J, Fauci A, Kasper D, L. S. Harrison, *Principios de medicina interna.*: McGraw Hill; 2020. p. 816-822.
 21. Valentini C, Pellegrino C, Teofili L. Pros y contras de la criopreservación de productos de células madre alogénicas. *Cells*. 2024; 13(6): p. 552.
 22. Gaytán F. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) en Pediatría. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2013; 12(3).
 23. Oliveros J, Sandoval C, Cires R, Blum M, Tafur A. Trasplante de células hematopoyéticas. *Revista "Medicina"*. 2003; 9(2): p. 174-185.

24. Guo M, Liu J, Clark P, Ahmad S, Patel R, Varela J, et al. Cryopreserved versus fresh peripheral blood allogeneic stem cell transplantation outcomes in patients receiving post-transplant cyclophosphamide for graft-versus-host prophylaxis during the COVID-19 pandemic: a single center experience. *Int J Hematol.* 2023; 17(3): p. 428-437.
25. Maurer K, Kim H, Kuczmarski T, Garrity H, Weber A, Reynolds C, et al. Impact of cryopreservation and transit times of allogeneic grafts on hematopoietic and immune reconstitution. *Blood Adv.* 2021; 5(23): p. 5140-5149.
26. Dagdas S, Ucar M, Ceran F, Gunes A, Falay M, Ozet G. Comparison of allogenic stem cell transplantations performed with frozen or fresh stem cell products with regard to GVHD and mortality. *Transfus Apher Sci.* 2020; 59(4).
27. Ersal T, Özkocaman V, Yalçın C, Orhan B, Candar O, Çubukçu S, et al. The effect of cryopreservation on engraftment kinetics in fully matched allogeneic stem cell transplantation: Real-life data and literature review. *Transfus Apher Sci.* 2023; 62(6).
28. Facchin G, Savignano C, Battista M, Isola M, De Martino M, Petruzzellis G, et al. Impact of Cryopreservation of Peripheral Blood Stem Cells (PBSC) in Transplantation from Matched Unrelated Donor (MUD). *J Clin Med.* 2022; 11(14).
29. Jaramillo F, Useche E, García J, Rosales M, Manzi E, Estacio M, et al. Trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas en pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple, experiencia en 9 años. *Revista Colombiana de Cancerología.* 2018; 22(4): p. 138-142.