

Universidad de Concepción del Uruguay
Facultad de Ciencias Médicas “Dr. Bartolomé Vassallo”
Licenciatura en Hemoterapia e Inmunohematología

***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***

Estudiante:

María Florencia Nanni

Asesores:

Dra. Marisa Cobos

Lic. Leandro Calderón

Tutora:

Lic. Gisela Canovas Herrera

Galeguaychú

Año 2018

Contenido

Resumen.....	4
Palabras clave.....	4
Introducción y justificación	5
Objetivos	7
Objetivo general.....	7
Objetivos específicos.....	7
Planteamiento del problema	7
Hipótesis.....	7
Marco de referencia.....	8
Médula ósea.....	8
Células Progenitoras Hematopoyéticas	8
Trasplante de CPH	9
Tipos de trasplante de CPH	10
Obtención de CPH para trasplante.....	10
Células CD 34 +.....	13
Estimulación con G-CSF (Filgrastim) y movilización de las CPH	14
Sistema HLA.....	14
Registro Nacional de Donantes de Células Progenitoras Hematopoyéticas de INCUCAI: Historia del trasplante de CPH en Argentina	15
Antecedentes	17
Diseño metodológico	19
Tipo de estudio y diseño	19
Población y muestra.....	19
Métodos de recolección de información empírica	20
Operacionalización de las variables	20
Tratamiento y análisis de la información empírica	20
Resultados	21

Universidad de Concepción del Uruguay – Facultad de Ciencias médicas “Dr. Bartolomé Vassallo”
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

Conclusión/Discusión	29
Referencias bibliográficas	31
ANEXO I	35
ANEXO II	36

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

Resumen

El trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH), es una práctica médica incorporada desde hace muchos años para el tratamiento de diversas patologías hematológicas, oncológicas, hereditarias o inmunológicas. Las CPH se caracterizan por tener la capacidad de dividirse, auto-renovarse y diferenciarse en los diferentes linajes celulares; es por ello que constituyen una herramienta terapéutica probada para la reconstitución de la médula ósea (Nocetti y Cols, 2011). Estas células habitualmente son colectadas mediante dos métodos: por punción de las crestas ilíacas o por sangre periférica mediante un procedimiento llamado aféresis. En el presente trabajo se intentó demostrar si las variables sexo, edad y peso de los donantes, influyen en la cantidad de CPH obtenidas en los productos de las colectas por sangre periférica, con el fin de utilizar dicha información como herramienta durante el proceso de selección de donantes de CPH. Para ello se analizó la información disponible del Registro Nacional de Donantes de Células Progenitoras Hematopoyéticas del INCUCAI que donaron CPH para pacientes argentinos, entre enero de 2009 y octubre de 2017. Se seleccionaron aquellos donantes a los que se les realizó colecta por sangre periférica, previa estimulación con 2 mg de Filgastrim, por vía subcutánea, durante los 5 días previos. Se observó que, en la población estudiada, 51 donantes, las variables mencionadas no condicionan el recuento de células CD 34+ obtenidas en los productos de aféresis.

Palabras clave

Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH), trasplante no relacionado, aféresis, sangre periférica.

Introducción y justificación

La realización de un trasplante alogénico de CPH (células provenientes de un donante genéticamente similar, pero no idéntico) está condicionada por la existencia de una barrera genética: el sistema de Histocompatibilidad (HLA), a través de los antígenos de clase I y II (Martínez Álvarez, 2005).

Las leyes de la herencia que regulan la transmisión de las características genéticas de padres a hijos hacen que cada hijo sea el resultado de la suma del 50% de la dotación genética de su padre y del 50% de su madre, lo que determina que existan hermanos HLA idénticos, semi-idénticos y diferentes, con lo cual un paciente que debe ser trasplantado tendrá solo un 25% de posibilidades de contar con un hermano histoidéntico, dejando afuera de este procedimiento a un 75 % de la población enferma y con dicha indicación (de la Guardia Peña, García García, Ustariz García, Morera Barrios, 2016). Allí radica la importancia de la existencia de los registros de donantes de CPH en todo el mundo, a fin de lograr representar a la mayor cantidad de variaciones genéticas presentes en las poblaciones y así identificar donantes de CPH no emparentados para aquellos pacientes que no cuentan con un familiar compatible.

Otra dificultad radica en la obtención de un producto de CPH apto para trasplante, es decir, que contenga la cantidad suficiente de células que son requeridas por el receptor. Para lograr un recuento de células exitoso, es necesaria la correcta estimulación/movilización del donante, que involucra el aumento temporario en el índice de disociación de las CPH desde la médula ósea, la interrupción de los fenómenos de adherencia, y la migración de las CPH hacia la circulación periférica. La movilización se lleva a cabo por una variedad de métodos farmacológicos que incluyen terapia mielosupresora, factores de crecimiento hematopoyético, bloqueo de receptores de adhesión, entre otros (Asociación Americana de Bancos de Sangre (2012) Manual Técnico. Ed.17). A los donantes que no logran una efectiva movilización, se los denomina “pobres movilizadores”.

Para determinar la efectiva movilización, es necesario hacer el recuento de células CD34+ presentes en el producto obtenido de la aféresis. El antígeno CD34 es un marcador de

membrana presente en las CPH. Según la Asociación Americana de Bancos de Sangre, la pobre movilización de las CPH puede ser definida de tres maneras diferentes:

No lograr un mínimo de 5 a 20 CD34+/microlitro en sangre periférica después de completar el régimen de movilización.

La incapacidad de recolectar por lo menos 1 a 2 x10⁶ CD34+/kg (de peso del receptor) durante un procedimiento de aféresis.

La falla para recolectar un total de 5 x10⁶ CD34+/kg (de peso del receptor) en el total de los procedimientos de colecta.

El recuento de CD34+ en el producto a trasplantar es un factor condicionante para el resultado exitoso de un trasplante de CPH no relacionado. Según el Manual Técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (2012), una dosis de al menos 2 x 10⁶ CD34+/kg de peso del paciente es requerida para realizar un trasplante.

El resultado de un trasplante está determinado por el “prendimiento” (engraftment) o no de las CPH injertadas. La presencia de nuevos glóbulos blancos en el torrente sanguíneo del paciente determina el engraftment. El tiempo que lleva este proceso varía: puede producirse entre la segunda y cuarta semana, como también puede tomar varios meses, o producirse un fallo de engraftment. Para que el sistema inmunitario se recupere completamente necesita varios años (The Bone Marrow foundation, s/f).

Por la relevancia que tienen los valores de CD34+ en los productos de trasplante, resulta conveniente investigar qué variables vinculadas al procedimiento y qué características de los donantes afectan a la posibilidad de obtener el mencionado recuento mínimo de CD34+, y de esta manera tenerlo en cuenta a la hora de seleccionar el mejor donante para un paciente que requiere trasplante de CPH.

Objetivos

Objetivo general

Analizar variables vinculadas a los donantes de CPH, del Registro Nacional de Donantes de CPH del INCUCAI, y su impacto en el recuento de células CD34+ de los productos obtenidos por aféresis, para trasplante no relacionado.

Objetivos específicos

Analizar si la edad, el sexo y el peso de los donantes de CPH del Registro Nacional de Donantes de CPH del INCUCAI, resultan variables que condicionan los recuentos de CD34+ de los productos obtenidos por aféresis, para trasplante no relacionado.

Planteamiento del problema

Frente al protocolo de estimulación determinado ¿la edad, el sexo y el peso de los donantes de CPH influyen en el recuento de células CD34+ de los productos para trasplante obtenidos por aféresis?

Hipótesis

La multiplicidad de características de los donantes de CPH por aféresis representan variables que condicionan la obtención de productos con recuentos de CD34+ óptimos para trasplante de modo que:

Existen diferencias en los recuentos de CD34+ obtenidos de donantes masculinos y de donantes femeninos.

Los donantes más jóvenes (18 – 45 años) logran productos con mejor recuento de CD34+ que los donantes mayores (46-55 años).

De los donantes de mayor peso se obtienen productos con recuentos más altos de CD34+ que de los donantes con menor peso.

Marco de referencia

En el siguiente apartado introduciré conceptos básicos relacionados al trasplante de CPH, así como también conceptos más específicos que utilizo en esta tesina; y continuaré con un recorrido por la historia del surgimiento del Registro Nacional de Donantes de CPH del INCUCAI en Argentina, para luego realizar el análisis de las donaciones por sangre periférica para pacientes argentinos desde la creación del Registro.

Médula ósea

La médula ósea es un tejido biológico graso y suave que se encuentra en el interior de los huesos. (Reina y Ramírez, 2007).

Allí las células se diferencian al recibir las señales necesarias (factores de crecimiento, proteínas solubles) ya que cuentan con el ambiente celular específico y la estructura necesaria.

Células Progenitoras Hematopoyéticas

Las CPH son las células encargadas de la Hematopoyesis (Hema: sangre. Poyesis: producción), es decir de la formación de la sangre. Se encuentran principalmente en la médula ósea, y en la sangre del cordón umbilical.

Poseen tres características básicas:

- 1- Son multipotentes, es decir, tienen el potencial de generar los linajes sanguíneos: la línea roja que produce los eritrocitos (encargados de transportar el oxígeno a los tejidos); la línea blanca (se encargan de la vigilancia inmunológica), que produce células de diferentes tipos como las linfocitos: linfocitos B y T, y las mielocitos: basófilos/mastocitos, eosinófilos, neutrófilos/ granulocitos, y monocitos/macrófagos; y también genera la línea trombocítica que da origen a megacariocitos/plaquetas (participan en el proceso de coagulación de la sangre).
- 2- Tienen un alto potencial proliferativo, es decir que son capaces de dividirse y producir un gran número de células maduras durante la vida del individuo.

- 3- Tienen alta capacidad de generación de nuevas células madre idénticas, manteniendo una división de tipo simétrico, capacidad conocida como auto-renovación. (Reina y Cols., 2007).

Trasplante de CPH

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es una modalidad terapéutica muy eficaz para el tratamiento de gran cantidad de enfermedades de elevada mortalidad, y es el tratamiento de elección para diversas patologías hematológicas, oncológicas, hereditarias o inmunológicas (Pérez García y Cols, 2012)

Cuando se habla de trasplante de médula ósea (MO), en realidad se está hablando de trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas, (CPH) o Células Madre, situadas en la MO, quienes van a dar origen a los elementos constitutivos de la sangre, los glóbulos rojos, encargados del transporte del oxígeno a los tejidos, los glóbulos blancos, encargados de las defensas orgánicas y las plaquetas involucradas en la hemostasia.

El trasplante propiamente dicho consiste en la infusión intravenosa al paciente, del producto de CPH obtenido del donante.

Al ingresar en el torrente sanguíneo, las células madre viajan a la médula ósea, donde empiezan a producir nuevos glóbulos blancos, rojos y plaquetas. Este proceso es llamado "engraftment" o "de prendimiento". El prendimiento de las células, si bien es variable, suele tener lugar dos a ocho semanas después del trasplante (Dorticós Balea y Cols., 1999). El proceso se vigila realizando recuentos sanguíneos frecuentes para confirmar que se están produciendo nuevas células sanguíneas. Sin embargo, la recuperación completa de la función inmunitaria lleva más tiempo; incluso hasta varios meses para los receptores de un trasplante autólogo y hasta varios años para los receptores de un trasplante alogénico.

El proceso del trasplante consta de las siguientes etapas:

1. Diagnóstico del paciente.
2. Determinar el tipo de trasplante.

3. Estudio de compatibilidad HLA y otros estudios necesarios pretrasplante.
4. Determinar la fuente de las CPH.
5. Acondicionamiento del donante (estimulación)
6. Colecta de las CPH
7. Procesamiento de las CPH
8. Infusión de las CPH al paciente
9. Seguimiento del paciente trasplantado

(Jaime, Dorticós, Pavón, Cortina, 2004)

Tipos de trasplante de CPH

Existen distintos tipos de trasplante de CPH:

Trasplante autólogo, en donde se utilizan las propias CPH sanas del paciente. Las células propias son colectadas y conservadas para posteriormente reinfundirlas, como por ejemplo, luego de procedimientos terapéuticos con empleo de altas dosis de quimioterapia, con el fin de recuperar la función hematopoyética correcta (Jaime Fagundo y Cols., 2004).

Trasplante alogénico, es efectuado entre individuos de una misma especie. Implica la infusión de CPH de un donante sano a un paciente enfermo que se ha sometido a un tratamiento de acondicionamiento (con el fin de erradicar las células neoplásicas y la capacidad de respuesta inmune del receptor) (Jaime Fagundo y Cols., 2004). Las células provienen de un donante compatible con el paciente. El donante en este tipo de trasplante a su vez pueden ser: un donante compatible familiar, o un donante no emparentado compatible con el paciente.

Obtención de CPH para trasplante

Existen tres fuentes a partir de las cuales se pueden obtener las CPH:

La médula ósea: es el lugar en donde están situadas las CPH. Se punzan las crestas ilíacas y se aspira la médula ósea directamente. Es un procedimiento que se lleva a cabo bajo anestesia general, en quirófano.

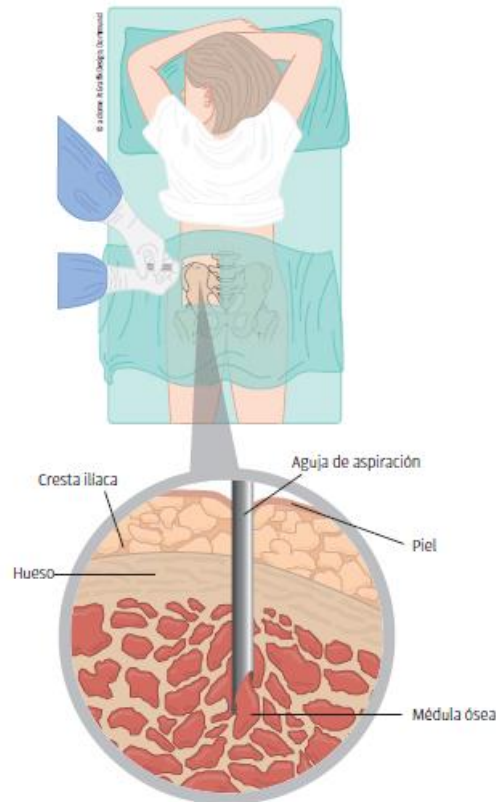


Figura I: Recolección de médula ósea por punción de cresta ilíaca.

Fuente: Asociación Americana de Bancos de Sangre (2012) Manual Técnico. Ed.17.

La sangre periférica: las CPH circulan en muy baja proporción en el torrente sanguíneo periférico, pero pueden ser colectadas luego de un estímulo farmacológico adecuado, que posibilita la salida de estas células desde la médula, y su aumento en la circulación periférica.

Las células progenitoras hematopoyéticas para trasplante se obtienen de la sangre periférica mediante un procedimiento de aféresis de grandes volúmenes, a partir de la capa de células mononucleares que se obtiene por la acción de un separador celular. (Nocetti y Cols, 2011).

La aféresis consiste en conectar al donante por vía venosa a una máquina, que mediante un

equipo de bolsas y tubos de recolección estériles, es capaz de obtener y separar las células de interés, y devolver al torrente sanguíneo el resto de los componentes.

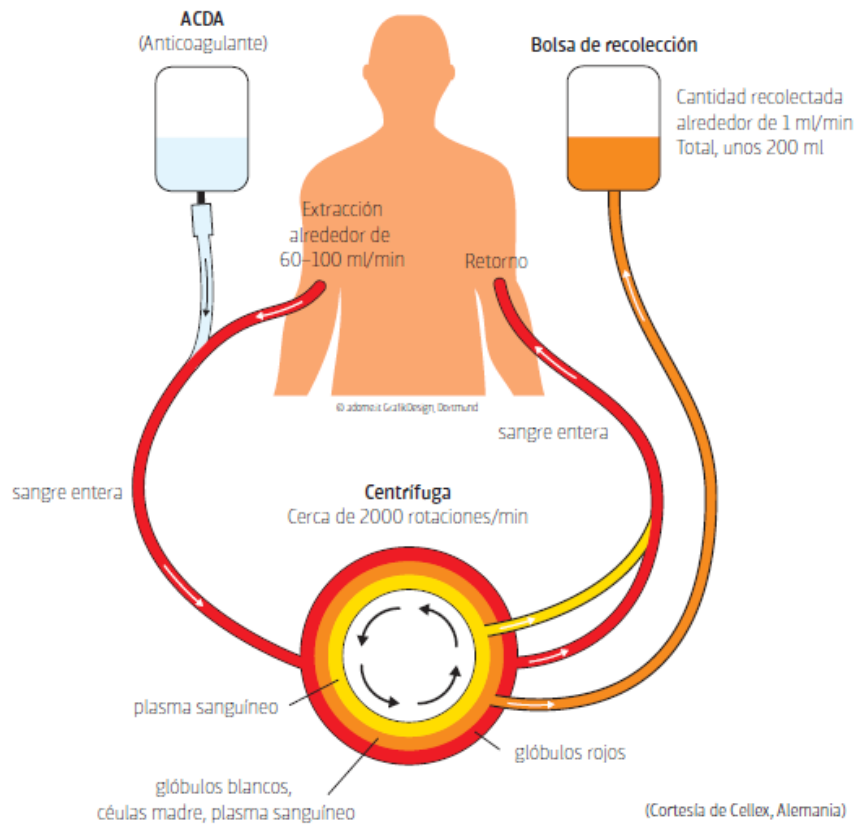


Figura II: Recolección de CPH por aféresis.

Fuente: Asociación Americana de Bancos de Sangre (2012) Manual Técnico. Ed.17.

La sangre remanente en la placenta y en el cordón umbilical: esta sangre constituye una fuente rica de CPH para trasplante de médula ósea. Actualmente, la colecta y preservación de sangre de cordón umbilical es un procedimiento habitual y bien establecido en diversos países. Consiste en la colecta de la sangre remanente en el cordón umbilical y en la placenta,

luego del nacimiento del bebé. Puede ser recolectada de una manera muy sencilla a través de la punción de la vena umbilical (Gamba y Cols. 2006).

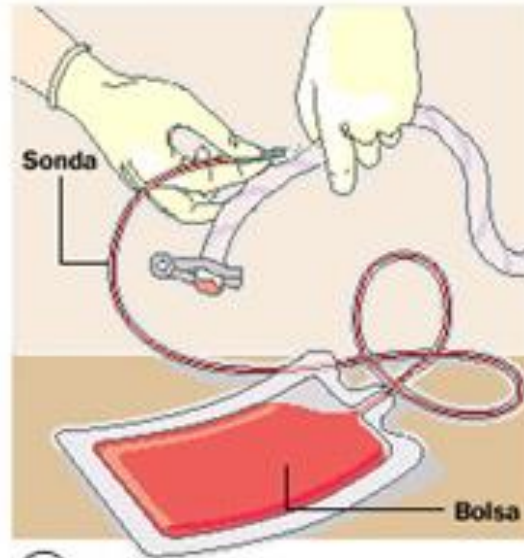


Figura III: Recolección de CPH por punción de vena umbilical.

Fuente: http://donacion.organos.ua.es/submenu3/inf_sanitaria/cordon/cordon2_1.asp

Células CD 34 +

Las CPH empleadas para trasplante son reconocidas por un antígeno de membrana presente en las células inmaduras hematopoyéticas, una glicoproteína denominada CD34.

Las células que expresan CD34 (CD34+) se encuentran en una concentración de 1% a 3% entre las células normales de la médula ósea y en la sangre periférica en menor cantidad, de 0,01% a 0,1%. (Nocetti y Cols, 2011)

Una técnica de marcación con anticuerpos monoclonales anti-CD34 y con lectura por citometría de flujo es empleada para determinar la concentración de células CD34+ en los productos obtenidos para trasplante.

Estimulación con G-CSF (Filgrastim) y movilización de las CPH

El G-CSF es una glicoproteína humana que regula la producción y liberación de los granulocitos neutrófilos funcionales en la médula ósea.

El Filgrastim, que contiene G-CSF biotecnológico, es un factor de crecimiento de glóbulos blancos (factor de estimulación de colonias de granulocitos) y pertenece a un grupo de medicamentos denominados citosinas.

Las células precursoras de la médula ósea contienen el receptor para el G-CSF, y al ser estimulado, se produce la proliferación y diferenciación de las células precursoras, y la migración de las mismas desde la médula ósea hacia la sangre.

La liberación y migración de las CPH desde la médula ósea hacia la sangre es un proceso denominado “movilización” (Rodríguez Pardo, 2005). Esto posibilita la obtención de las CPH desde la sangre periférica, y es empleado tanto para trasplantes autólogos como alogénicos.

La dosis de Filgrastim empleada en todos los individuos que forman parte del presente estudio ha sido de 2 ml diarios por 5 días, y administrado por vía subcutánea.

Sistema HLA

Los antígenos leucocitarios humanos (HLA, human leukocyte antigen) están ubicados en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, the major histocompatibility complex), y se encuentran en los glóbulos blancos (o leucocitos) de la sangre y en la superficie de casi todas las células de los tejidos de un individuo.

Este sistema de antígenos representa la barrera inmunológica más importante para la realización de trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas, ya que las moléculas de HLA tienen como función reconocer péptidos y presentarlos en la superficie de las células presentadoras de antígenos (CPA), para que las células T hagan la distinción entre los antígenos propios y los extraños, pudiendo desencadenar una respuesta inmune contra los antígenos HLA no propios muy fuerte. Por estos motivos la correcta y exacta tipificación

HLA y el criterio de compatibilidad son factores fundamentales para el éxito de un trasplante. (Martínez Álvarez 2005).

Registro Nacional de Donantes de Células Progenitoras Hematopoyéticas de INCUCAI: Historia del trasplante de CPH en Argentina

La demanda de trasplantes de CPH en Argentina planteó un problema de política sanitaria. Principalmente la problemática se basaba en que, frente a la necesidad de contar con un donante compatible, sólo el 25% de los pacientes logra obtener el donante dentro del núcleo familiar, quedando un 75% de la población con indicación de trasplante de CPH sin acceso a la práctica. Por ello era necesario gestionar desde la Argentina la búsqueda de donantes en los registros del exterior, lo que implicaba un elevado costo social y económico. Por otra parte, existía rechazo por parte de las obras sociales para cubrir los gastos vinculados a este tratamiento, y surgía la necesidad de fondos (subsidios nacionales, provinciales municipales) para dar respuesta a los mismos.

Mediante la intervención de distintos actores pertinentes a diversos niveles, se realizó la evaluación y el estudio del problema. Es así que junto con la participación de la población a través de las ONG, de las sociedades científicas, de la Sociedad Argentina de Hematología, la Sociedad Argentina de Trasplante, la Sociedad Argentina de Histocompatibilidad, el Grupo Argentino de Trasplante de Médula ósea, y las organizaciones sanitarias que regulan el trasplante en el país CUCAIBA e INCUCAI, se elaboró un anteproyecto de ley, que posteriormente fue tratado y fue sancionada la ley 25.392, que creaba el Registro Nacional de Donantes de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH). Posteriormente la ley fue reglamentada por el Decreto Reglamentario 267/03.

Finalmente, creado por la Ley 25.392, el 1ro de Abril de 2003 comenzó a funcionar en el ámbito del INCUCAI, el Registro Nacional de Donantes de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) para dar respuesta a pacientes con indicación de trasplante de CPH y que no tuvieran un familiar compatible. En junio del mismo año se incorporó a la red internacional BMDW – Bone Marrow Donors Worldwide (Asociación mundial de donantes de Médula Ósea).

De esta manera, los objetivos principales del Registro fueron: conformar una base de datos de donantes argentinos tipificados por HLA (Antígenos Leucocitarios Humanos) mediante la incorporación de la figura de donantes voluntarios de CPH al Registro Nacional, integrar el Registro Nacional a la red internacional de donantes BMDW, realizar las búsquedas de donantes de CPH no emparentados en registros del exterior, facilitar la realización de trasplantes de CPH en pacientes de nuestro país o del exterior con donantes argentinos, y coordinar el proceso de procuración y traslado de células para trasplante.

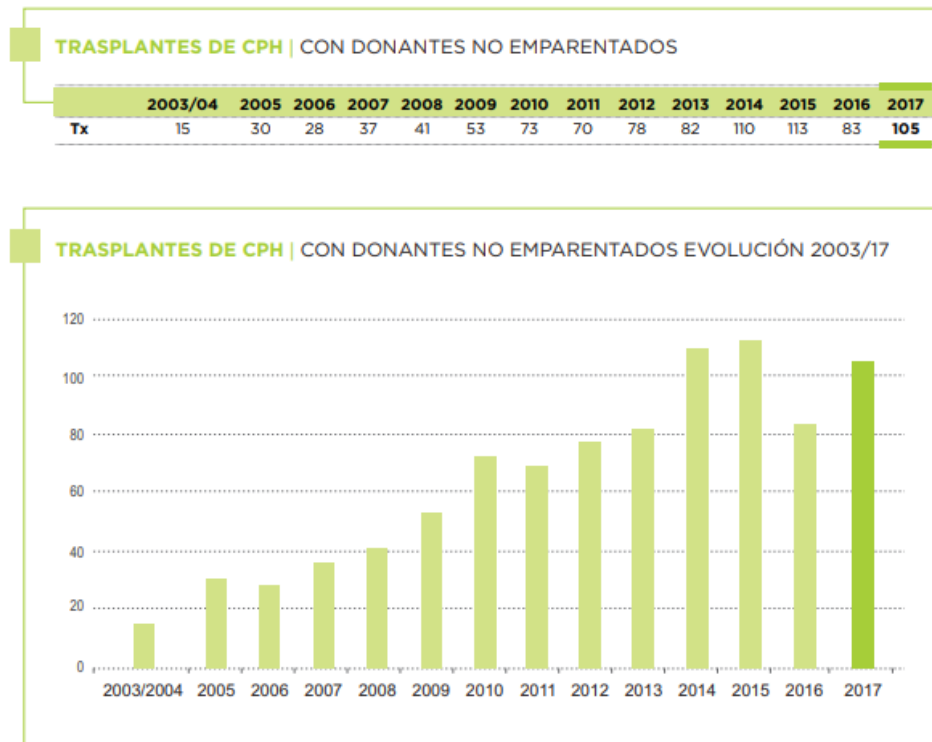


Gráfico I: Trasplantes de CPH con donante no emparentado en Argentina desde el año 2003 hasta el 2017.

Fuente: Memoria 2017 INCUCAI. Procuración y trasplante de órganos, tejidos y células en argentina.

El gráfico muestra la evolución de los trasplantes con donante vivo no emparentado en Argentina desde 2003 hasta 2017, permitiendo observar el incremento de la realización de estos procedimientos conforme pasaron los años.

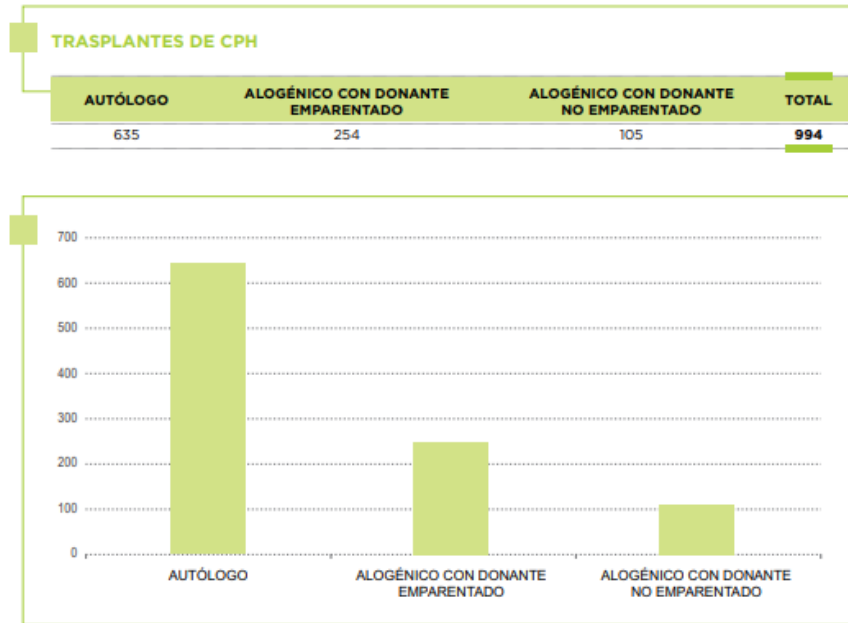


Gráfico II: Trasplantes de CPH en Argentina hasta el año 2017, según tipo de trasplante: autólogo, emparentado y no emparentado.

Fuente: Memoria 2017 INCUCAI. Procuración y trasplante de órganos, tejidos y células en argentina

Antecedentes

La sangre periférica es la principal fuente de obtención de CPH para trasplante empleada actualmente, pero es poca la información disponible acerca de los factores que predicen el éxito de la colecta de CPH por este método (Ings y cols., 2006). El uso de este método casi ha reemplazado a la punción de médula ósea como método de elección para la obtención de CPH para trasplantes autólogos, posterior al tratamiento con quimioterapia mielosupresiva y mieloablativa, y está siendo utilizada cada vez más en donantes pediátricos y adultos en trasplante alogénicos (Croop y cols., 2000)

Ings y cols. (2006) en su estudio comparativo han comprobado la seguridad y eficacia de la estimulación de la médula ósea con G-CSF tanto mediante la aplicación de Lenograstim como de Filgrastim (utilizado en el presente estudio). Reportaron la movilización y colecta de CPH en 400 donantes sanos, utilizando la misma dosis en ambas formas de estimulación granulocítica, no evidenciando diferencias significativas entre ellas, y logrando en el 98% de los casos, movilizaciones y colectas exitosas. Por otro lado, encontraron mínimos efectos vinculados a la edad de donante, peso y sexo, pero suficientes para recomendar, en los casos en los que sea posible, donantes adultos, de contextura grande y de edad menor a 55 años.

Ruey-Ho y cols (2009) realizaron un estudio con 286 donantes sanos de CPH por punción de médula. Encontraron que la cantidad de células colectadas tenía una correlación positiva con el peso del donante y con el recuento de leucocitos en sangre periférica. Ellos recomendaron que para la obtención de CPH por punción directa de la MO, frente a un amplio número de donantes compatibles sanos, se seleccionen donantes con mayor peso. Pruszczyk y cols (2017) profundizaron en el estudio del impacto de la desproporción entre el peso del donante y del paciente y observaron que en los casos en los que los donantes fueron de mayor peso que los receptores, en el 98.3% de los casos la colecta resultó exitosa, mientras que en los casos en los que el receptor fue de mayor peso que el donante, el porcentaje de colectas exitosas fue de 70.8%.

A pesar de que los equipos empleados para la aféresis han demostrado ser muy efectivos para la recolección de grandes cantidades de células blancas nucleadas, el número de células CD 34+ recolectadas es altamente variable dependiendo de factores como la respuesta del donante al G-CSF y el volumen de sangre procesada. (Croop y cols., 2000)

Suzuya y cols (2005) remarcaron que la edad del donante es el factor más importante a la hora de predecir el resultado de la colecta CPH por sangre periférica, con movilización con G-CSF, cuando en su estudio examinaron la relación entre ciertas características de los donantes (edad, índice de masa corporal, recuento de glóbulos blancos y plaquetas previo a la estimulación) y los recuentos de células mononucleares, de células CD34+ y de

granulocitos macrófagos formadores de colonias en los productos de aféresis obtenidos de 59 donantes sanos familiares, de entre 3 y 63 años de edad.

En el estudio de Özkurt, Batman, Yeain e İlhan (2017) observaron que la falla en la movilización tuvo mayor frecuencia de aparición en donantes mujeres que en donantes varones (13.7% vs. 3.4%), y encontraron además, que con recuentos similares de células progenitoras en sangre periférica, las donantes mujeres lograron colectas menos eficientes, atribuyendo esto al menor peso y a la deficiencia de hierro en comparación con los donantes varones.

Diseño metodológico

Tipo de estudio y diseño

El presente estudio es de tipo correlacional, en el que se intentó conocer la influencia de la edad, el sexo y el peso de los donantes de médula, en los recuentos de CD34+ de los productos obtenidos por aféresis para trasplante de CPH.

El diseño que se empleó fue no experimental, retrospectivo y se basó en la observación y el análisis de los resultados de laboratorio presentes en los expedientes del Registro Nacional de Donantes de CPH del INCUCAI y del Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina (SINTRA).

Se presentó la solicitud de autorización al Presidente del INCUCAI para la manipulación de los datos necesarios a recopilar para el presente estudio, debido a la sensibilidad y la confidencialidad de los mismos. (ANEXO I)

Población y muestra

Se trabajó con el total de la población de donantes efectivos argentinos de CPH registrados en el Registro Nacional de Donantes de CPH Argentino entre 2009 y 2017, quienes donaron CPH por sangre periférica y fueron estimulados previamente con 2 mg diarios de G-CSF (Filgrastim®) subcutáneo en los 5 días previos a la colecta.

51 casos cumplieron estas características y fueron los empleados para el presente estudio.

Métodos de recolección de información empírica

Se recopilaron datos presentes en los expedientes del Registro Nacional de Donantes de CPH del INCUCAI y del Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina (SINTRA), y se los plasmó en una planilla de Excel (ANEXO II).

Dicha planilla fue sometida a prueba con una pequeña muestra para verificar la confiabilidad inicial y la validez del instrumento, comprobándose su aptitud.

Operacionalización de las variables

Las variables estudiadas fueron sexo (Femenino / Masculino), edad (18 – 65 años), peso (en kg) de los donantes de CPH.

Tratamiento y análisis de la información empírica

El análisis estadístico de los datos recolectados se realizó mediante el programa SPSS.

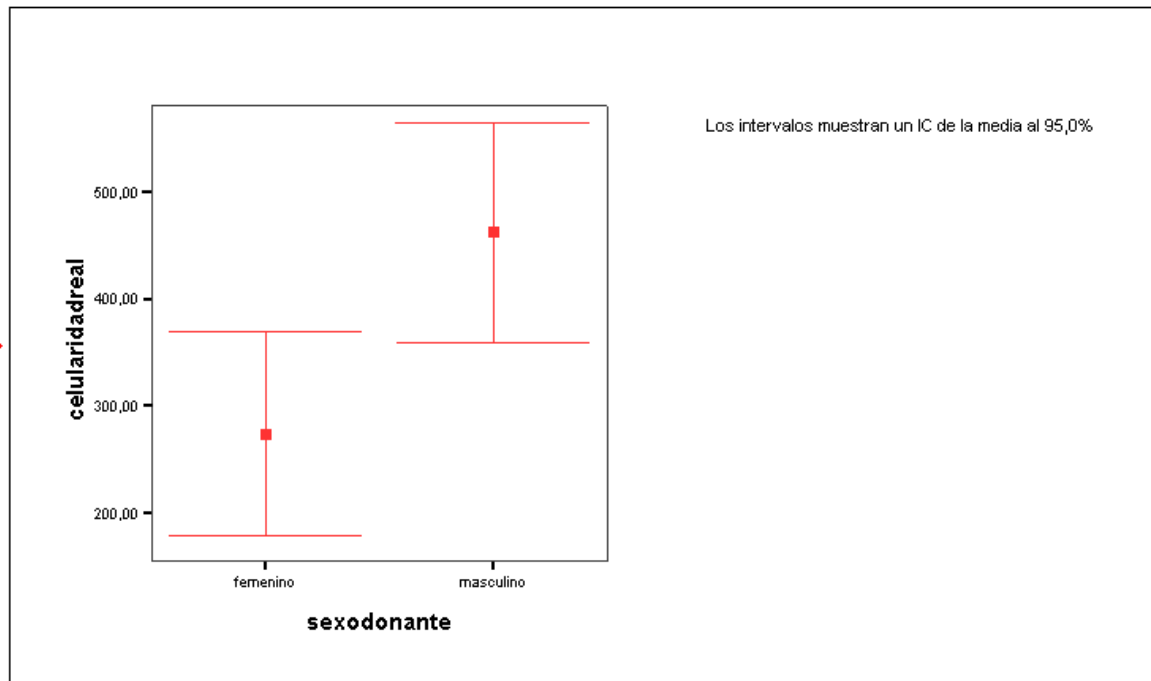
Resultados

En la población analizada (n=51) se empleó la misma dosis de estimulación (G-CSF) con Filgrastim: 2 ml diarios por 5 días, y fue administrada por vía subcutánea.

El recuento promedio en los productos obtenidos de aféresis fue de $6.54 \text{ CD34+} \times 10^6/\text{kg}$ de peso del paciente. Considerando que una colecta óptima es representada por la obtención de un total de $5 \times 10^6 \text{ CD34+}/\text{kg}$ (de peso del receptor), se concluyó que el 98.04% de las colectas fueron exitosas, 64.71% con recuentos óptimos y 33.33% con recuentos aceptables (entre 2 y $5 \times 10^6 \text{ CD34+}/\text{kg}$ de peso del receptor).

Para analizar la influencia de las variables sexo, peso y edad de los donantes en la obtención de productos de aféresis para trasplante de médula, se analizó la celularidad total de los productos de aféresis (celularidad del producto).

Se comenzó por analizar la influencia del sexo de los donantes. Se graficó la celularidad total (celularidad real) de las unidades para trasplante en función del sexo del donante:



Se observó una marcada diferencia, por lo que se procedió a realizar un t de student para muestras independientes, con el fin de determinar si dicha diferencia resulta significativa. Se

Universidad de Concepción del Uruguay – Facultad de Ciencias médicas “Dr. Bartolomé Vassallo”
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

trabajó en los test de hipótesis con un alfa de 0.05 (error de tipo 1), siendo resultados menores a 0.05 considerados significativos, mientras que los mayores a 0.05 no muestran significación alguna.

Prueba T

Estadísticos de grupo

sexodonante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
celularidadreal femenino	25	273,6764	230,45373	46,09075
masculino	26	461,9988	253,50424	49,71627

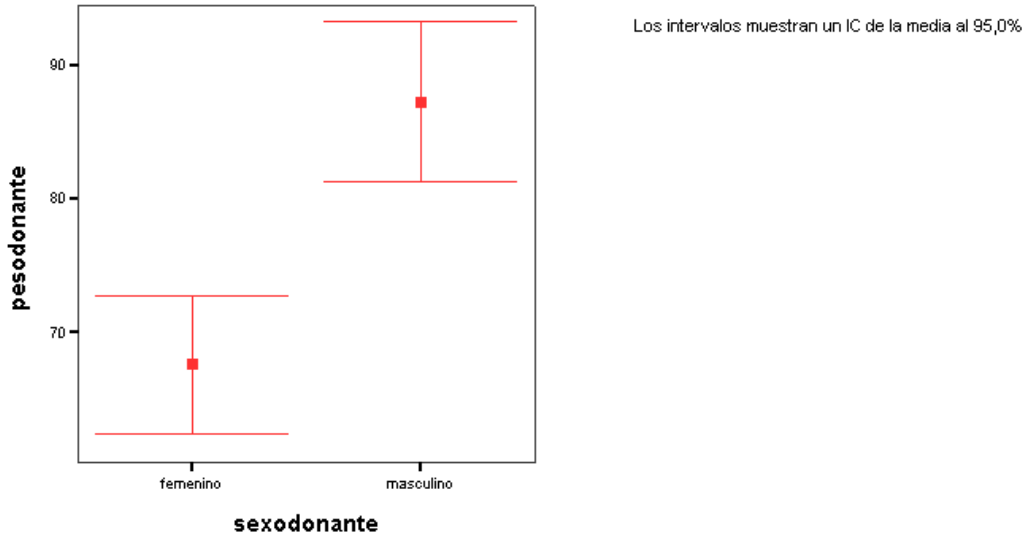
Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
celularidadreal	Se han asumido varianzas iguales	1,317	,257	-2,773	49	,008	-188,32245	67,92332	-324,819	-51,82543
	No se han asumido varianzas iguales			-2,778	48,851	,008	-188,32245	67,79428	-324,571	-52,07424

Esta prueba arrojó que la diferencia en el recuento celular total de los productos de aféresis entre donantes femeninos y masculinos es significativa (p=0.008). Obtenido este resultado, se procedió a incorporar la variable peso de los donantes al análisis.

Se graficó peso de los donantes en función del sexo. Este gráfico demostró una gran diferencia entre las medias de los pesos de los donantes hombres y de los pesos de las donantes mujeres:

Universidad de Concepción del Uruguay – Facultad de Ciencias médicas “Dr. Bartolomé Vassallo”
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



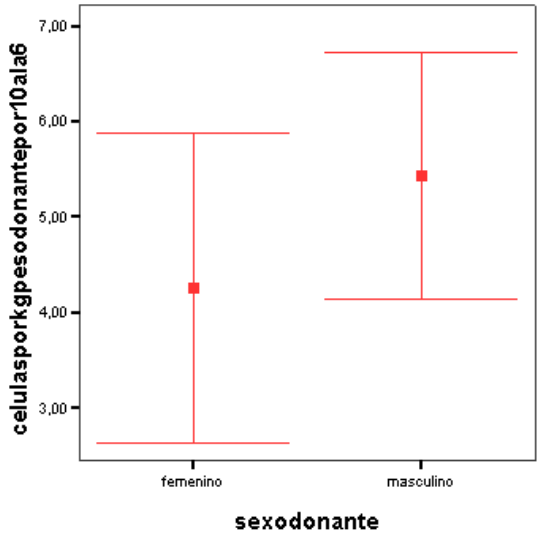
Estadísticos descriptivos

sexodonante		N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
femenino	pesodonante	25	53	98	67,56	12,534
	N válido (según lista)	25				
masculino	pesodonante	26	65	124	87,19	14,776
	N válido (según lista)	26				

El análisis descriptivo de los pesos de los donantes según sexo puso en dudas si la diferencia vista anteriormente del recuento total de células entre sexos, en realidad no estaría atribuida a los pesos de los donantes, ya que el peso en donantes masculinos es muy superior a los donantes femeninos.

Se procedió a calcular entonces el recuento de células CD34+ obtenido en los productos de aféresis por kg de peso de donante, tanto en donantes femeninos como masculinos, con el fin de determinar si por kg de peso del donante, un donante masculino podía proveer mayor cantidad de células que un donante femenino.

Universidad de Concepción del Uruguay – Facultad de Ciencias médicas “Dr. Bartolomé Vassallo”
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



Los intervalos muestran un IC de la media al 95,0%

El gráfico de células colectadas x 10⁶ por kg de peso del donante permite observar a simple vista una diferencia entre las cantidades de células colectadas en donantes mujeres y varones por kg de peso del donante, por lo que se realizó un test de hipótesis para verificar si esa diferencia resultaba significativa. Esta prueba demostró que la diferencia no resulta significativa (p=0.249):

Prueba T

Estadísticos de grupo

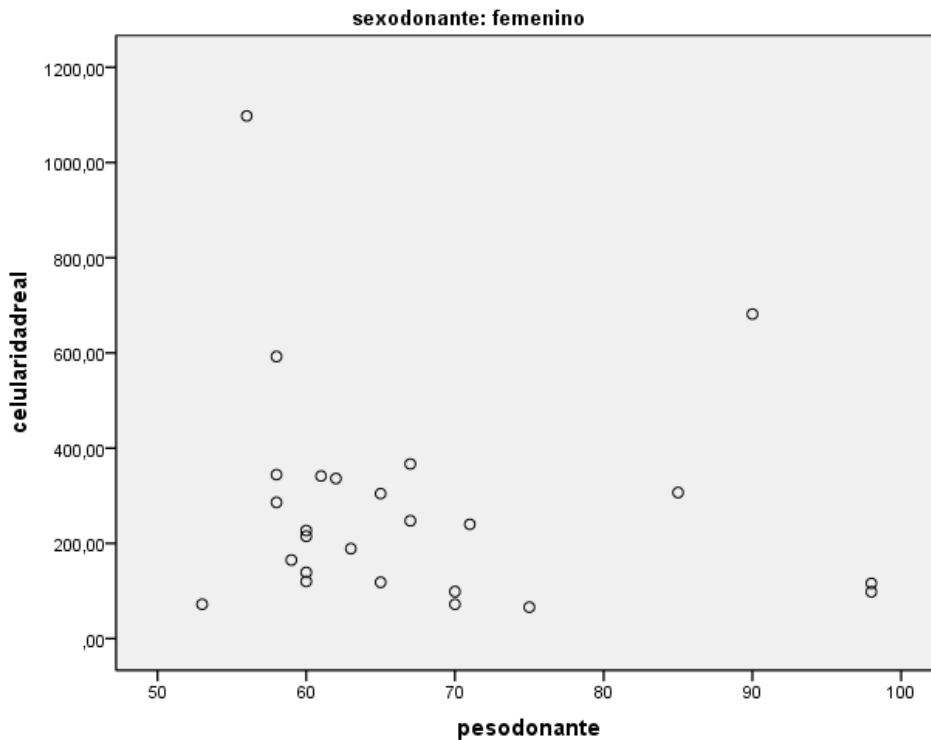
	sexodonante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
celulasporkgpeso donante por 10 ala 6	femenino	25	4,2516	3,92202	,78440
	masculino	26	5,4243	3,20295	,62815

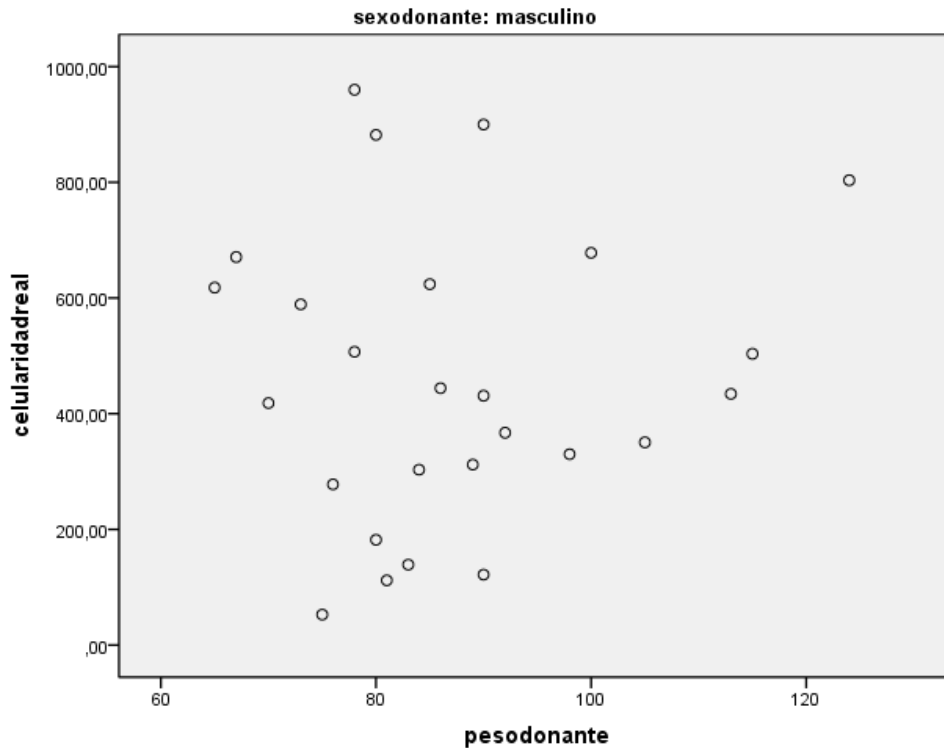
Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
celulasporkgpeso donante por 10 ala 6	Se han asumido varianzas iguales	,047	,830	-1,172	49	,247	-1,17268	1,00091	-3,18409	,83872
	No se han asumido varianzas iguales			-1,167	46,352	,249	-1,17268	1,00492	-3,19507	,84970

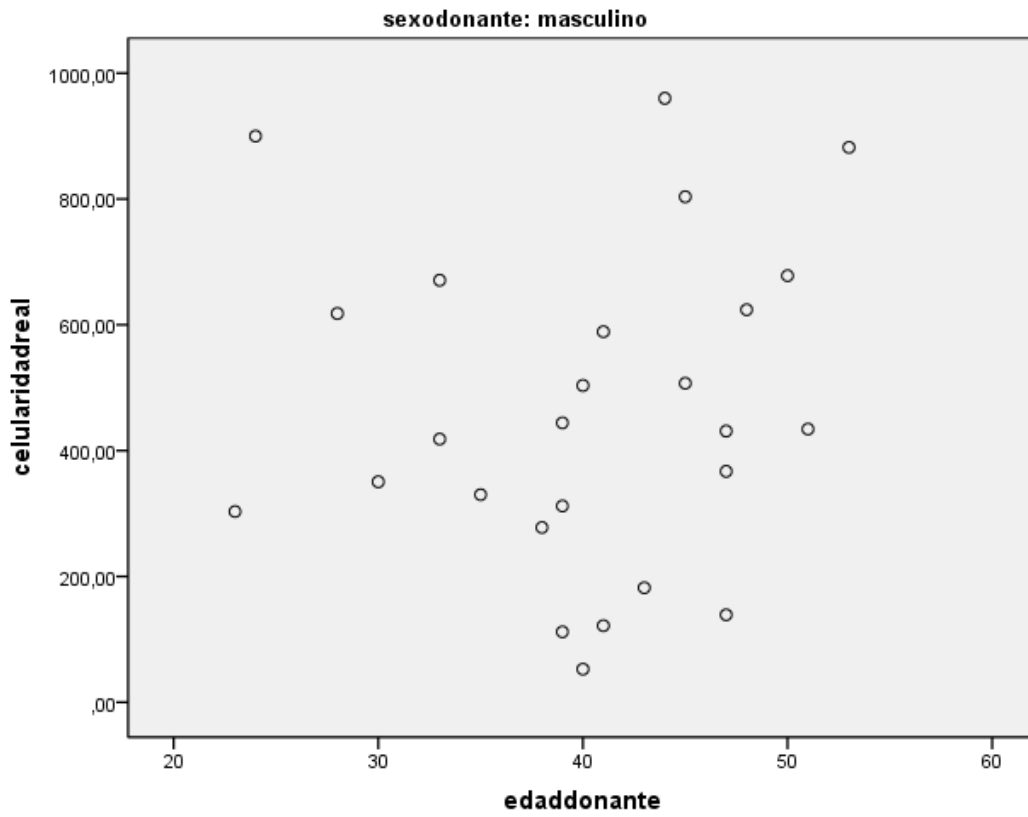
De esta manera, al comprobar que la cantidad de células colectadas en función del peso del donante no resulta diferente en donantes femeninos y masculinos, se terminó por descartar la variante sexo como variable significativa para la obtención de mejores recuentos celulares en productos de aféresis para trasplante de médula ósea.

El análisis del recuento de células en los productos de aféresis para trasplante en relación al peso del donante no permitió observar correlación entre estas variables. Al separarlo entre donantes de sexo femenino y masculino, los resultados fueron similares, muy dispersos en ambos casos. Probablemente esta correlación podría visualizarse en el caso de contar con un N de casos mayor.

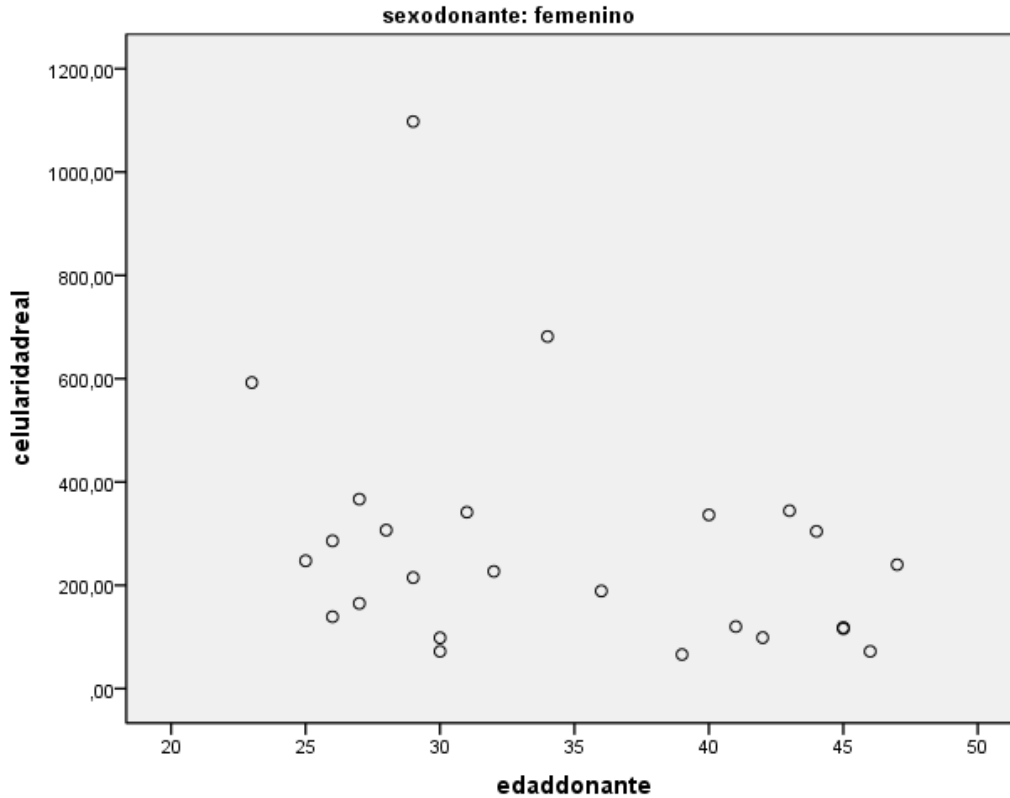




Finalmente se evaluó la influencia de la edad de los donantes en los recuentos obtenidos de células en los productos de aféresis para trasplante. De la misma manera que con el análisis del peso de los donantes, el recuento de células totales en función de la edad de los donantes, no permitió observar una correlación entre las variables. Al separarlo entre donantes femeninos y masculinos, tampoco:



Universidad de Concepción del Uruguay – Facultad de Ciencias médicas “Dr. Bartolomé Vassallo”
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



Profundizando y analizando los grupos de edades de los donantes (18-30, 31-45, 46-55), los estudios descriptivos no muestran diferencias marcadas en la media de los recuentos de células totales obtenidas:

Estadísticos descriptivos

gruposedaddonante	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
18 a 30 celularidadreal	15	72,00	1097,80	383,8960	296,60217
N válido (según lista)	15				
31 a 45 celularidadreal	27	52,70	960,00	341,7748	239,29062
N válido (según lista)	27				
46 a 55 celularidadreal	9	72,00	882,00	429,7244	263,71132
N válido (según lista)	9				

Se procedió a subdividir los grupos de edades en sexo, lo que permitió observar que la media en los hombres, en los 3 grupos, fue superior al de las mujeres, pero como se observó anteriormente, no de manera significativa:

Universidad de Concepción del Uruguay – Facultad de Ciencias médicas “Dr. Bartolomé Vassallo”
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

Estadísticos descriptivos

grupos edad donante	sexo donante		N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
18 a 30	femenino	celularidad real	11	72,00	1097,80	326,0709	294,28540
		N válido (según lista)	11				
	masculino	celularidad real	4	303,18	900,00	542,9150	275,47024
		N válido (según lista)	4				
31 a 45	femenino	celularidad real	12	66,00	681,60	245,2608	172,38471
		N válido (según lista)	12				
	masculino	celularidad real	15	52,70	960,00	418,9860	261,95361
		N válido (según lista)	15				
46 a 55	femenino	celularidad real	2	72,00	240,00	156,0000	118,79394
		N válido (según lista)	2				
	masculino	celularidad real	7	139,08	882,00	507,9314	241,37551
		N válido (según lista)	7				

Conclusión/Discusión

La obtención por sangre periférica de CPH para trasplante alogénico ha sido el método de elección durante los últimos años en Argentina, al igual que en muchos otros países. En muchos Registros de Donantes de CPH del mundo, las políticas de captación de donantes apuntan a personas jóvenes, así como también, los donantes jóvenes, son los de elección durante el proceso de selección de un donante para un paciente que requiere trasplante de CPH. Según el NMDP (Programa de Nacional de Donantes de Médula de Estados Unidos): “Las células colectadas de donantes jóvenes resultan en trasplantes con mejores resultados”.

Es por eso que en el presente estudio nos hemos enfocado en evaluar variables que estén vinculadas a los donantes y que pudieran influir en la obtención de productos de CPH para trasplante con óptimos recuentos celulares, con el fin de utilizar los resultados como herramienta adicional en la selección del mejor donante, así como también para respaldar las políticas de captación de donantes del Registro Argentino de Donantes de CPH.

La incipiente experiencia argentina en la temática resulta aún inmadura para determinar fehacientemente si las variables analizadas resultan condicionantes a la hora de obtener productos con recuentos óptimos de CD34+ para trasplante de CPH. El N analizado, de 51 casos, no permitió establecer correlaciones directas entre las variables estudiadas. Pero a pesar de ello, se pudo observar que entre los donantes masculinos y femeninos sí hubo

diferencia en los recuentos de células CD34+ de los productos obtenidos para trasplante, siendo mayores en los donantes masculinos; y aunque finalmente esa diferencia se atribuyó a que los pesos de los donantes masculinos son notablemente superiores a los pesos de las donantes femeninas, esto podría marcar una orientación hacia la selección de donantes masculinos por sobre femeninos sobre todo cuando el requerimiento celular es alto, es decir, en los casos en donde el paciente es un adulto.

Resultaría importante continuar estudiando estas variables a medida que aumente la cantidad de donantes efectivos, así como también recopilar la información de los recuentos de CD34+ en sangre periférica de todos los donantes previo a la aféresis, para analizar con mayor precisión la respuesta del donante a la estimulación con G-CSF. Por último, evaluar la efectividad de la dosis empleada de G-CSF generalizada para todos los donantes.

Referencias bibliográficas

- Asociación Americana de Bancos de Sangre (2012) *Manual Técnico. Ed.17*. Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología.
- Clerici C. (2016). *Textos académicos y científicos: pautas de escritura para principiantes*. Concepción del Uruguay: Espacio editorial Institucional UCU.
- Confer D.L., Miller J.P. (2007) Optimal donor selection: beyond HLA. Biology of blood and marrow transplantation. *J Am Soc for Blood Marrow Transplant*, 13, 83–6.
- Croop J.M., Crooper R., Seshardri R., Fernandez C., Graves V., Kreissman S., Smith F.O., Cornetta K., Williams D.A., Abonuour R. (2000). Large-scale mobilization and isolation of CD 34+ cells from normal donors. *Bone Marrow Transplantation*, 26, 1271-129.
- De la Guardia Peña OM, García García MA, Ustariz García C, Morera Barrios LM, (2016). Estudios inmunológicos en la pareja donante/receptor para trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Revista Cubana Hematología Inmunología Hemoterapia* 32(2)
- Dorticós Balea E, Díaz Durán CV, Estrada del Cueto M, Carnot Uría J, Gonzéles Otero A, Pavón Morán V. (1999). Recuperación hematopoyética en trasplante alogénico de médula ósea. *Rev Cubana Hematología Inmunología Hemoterapia* 15 (3)
- Gamba C, Marcos MA, Trevani H, Van der Velde J, Marcos Y, Theiler G, Rossi J, Zelasko M, Fainboim L, del Pozo AE. (2006) Banco Público de Sangre de Cordón Umbilical: etapa inicial del Programa No Relacionado en Argentina. *Acta bioquím. Clín. latinoam.* 40 (4)
- Hooper P.J., Santas E.J. (1993). Peripheral blood stem cell transplantation. *Oncol Nurs Forum.* 20(8): 1222-3.
- Hulley S., Cummings S., Browner W., Grady D., Newman T.(2007). *Designing clinical research* (3^{ra} ed.).USA: Lippincott Williams and Wilkins.

- Ings S.J., Balsa C., Leverett D., Mackinnon S., Linch D.C., Watts M.J. (2006). Peripheral blood stem cell yield in 400 normal donors mobilized with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): impact of age, sex, donor weight and type of G-CSF used. *Br J Haematol.*134(5):517–25.
- Jaime Fagundo JC, Dorticós Balea E, Pavón Morán V, Cortina Rosales L. (2004) Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: tipos, fuentes e indicaciones. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 20 (2)
- Kollman C., Howe C.W., Anasetti C., Antin J.H., Davies S.M., Filipovich A.H., et al. (2001). Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood.* 98(7):2043–51.
- Levesque J.P., Winkler I.G. (2008) Mobilization of hematopoietic stem cells: state of the art. *Curr Opin Organ Transplant.* 13(1):53-58.
- Martinez Alvarez JC (2005). El papel del complejo principal de histocompatibilidad en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social.* 43 (1):87-90
- Nocetti G, Pugliese AM, Garcia PLichta A, Cilurzo P, Mortara A, Marino S, Sanchez S, Kuperman S, Remesar M, del Pozo AE. (2011) Proceso de colecta de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica. *Revista Argentina de Transfusión.*4,303-308.
- Ozen M, Gunduz M, Topcuoglu P, K. Toprak S. K, Dalva K, Gurman G, Ilhan O. (2017) The Effect of Age on Peripheral Stem Cell Mobilization in Healthy Donors, Single Center Experience. *Journal of Clinical Apheresis.* 32,16–20
- Özkurt Z N, Batmaz L, Yeain Z A, İlhan C. (2017) Factors affecting hematopoietic stem cell mobilization and apheresis in allogeneic donors: The role of iron status. *Transfus Apher Sci* 56(3): 470-473
- Pérez García M, Olaya Vargas A, Del Cmpo Martinez A, Gaytán Morales F, Mújica Guzmán F, Juárez Nicolás F, Mora Magaña I, Villar A, (2012) Reconstitución inmunológica

en niños receptores de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas* 21, (2): 72-79

Pruszczyk K, Skwierawska K, Król M, Moskowicz A, Jabłoński D, Torosian T, Piotrowska I, Urbanowska E, Wiktor-Jędrzejczak W, Snarski E.(2017) *European Journey of Haematology*. 9(4):357-365

Reina CM, Lara AR, Ramírez Clavijo S. (2007) Células madre hematopoyéticas, generalidades y vías implicadas en sus mecanismos de auto-renovación. *Rev. Cienc. Salud* 5 (1)

Rodriguez Pardo VM (2005) Células Madre: conceptos generales y perspectiva de investigación. *Revista de la Facultad de Ciencias Pontificia Universidad Javeriana* 10(1): 5-14

Ruey-Ho K., Chi-Cheng L., Cheng-Kuang S., Tso-Fu W., Sung-Chao C., Shu-Huey C., Chao-Yuan Y., Kuan-Po H., Yi-Feng W. (2009). Correlation between characteristics of unrelated bone marrow donor and cell density of total nucleated cell in bone marrow harvest. *Int J Hematol* 89:227–230

Spitzer T.R., Areman E.M., Cirenza E., Yu M., Dickerson S., Kotula P.L., et al. (1994). The impact of harvest center on quality of marrows collected from unrelated donors. *J Hematother*. 3(1):65–70

Suzuya H, Watanabe T, Nakagawa R, Watanabe H, Okamoto Y, Onishi T, Abe T, Kawano Y, Kagami S, Takaue Y. (2008) Factors associated with granulocyte colony-stimulating factor-induced peripheral blood stem cell yield in healthy donors. *Vox Sanguinis*. 89:229–235.

Wang T.F., Wen S.H., Chen R.L., Lu C.J., Zheng Y.J., Yang S.H., et al. (2008). Factors associated with peripheral blood stem cell yield in volunteer donors mobilized with granulocyte colony-stimulating factors: the impact of donor characteristics and procedural settings. *Biol Blood Marrow Transplant*. 14(11):1305–11.

Folletos

The Bone Marrow Foundation. (s/f) Trasplante autólogo de médula ósea o células precursoras: Un manual médico y educativo. Recuperado de <http://bonemarrow.org/wp-content/uploads/2012/08/Sp-AlogenicoFolleto.pdf>

Sitios web

Coordinación de Trasplantes del Hospital General Universitario de Alicante. Donación de sangre de cordón umbilical. Recuperado de http://donacion.organos.ua.es/submenu3/inf_sanitaria/cordon/cordon2_1.asp

European Society for blood and marrow transplantation
<https://ebmtonline.forumservice.net/media/06/main.html>

Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante (INCUCAI)

<https://www.argentina.gob.ar/salud/incuca>

World Marrow Donor Association (WMDA). <https://www.wmda.info/donors/>

ANEXO I

Autorización

INCUCAI

PRESIDENCIA

Dr. Alberto Maceira

S_____/____D

De mi mayor consideración

Por medio de la presente, María Florencia Nanni, DNI 34666527, estudiante de la Universidad de Concepción del Uruguay – Facultad de Ciencias Médicas “Dr. Bartolomé Vasallo”, me dirijo a usted con el fin de solicitar autorización para realizar un trabajo de investigación con fines académicos, dentro del Registro, para el cual se utilizará el nombre de la institución y se analizarán los datos presentes en el ANEXO I. Dicho trabajo será presentado como tesina final, para la obtención del título de Licenciada en Hemoterapia e Inmunohematología.

Tema:

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

Esperando contar con su autorización saludo muy cordialmente,

María Florencia Nanni

