

## **Introducción.**

- ◆ Criopreservación:
  - ✓ *Técnicas para conservar tejidos vivos a bajas temperaturas.*
- ◆ Transplante de células madre de sangre periférica (PBSCT):
  - ✓ *Transplante autólogo o alogénico de células madre pluripotenciales obtenidas de sangre periférica (no de médula ósea).*

## **Antecedentes.**

- ◆ **1949.** Glicerol como crioprotector. (Polge *et al.*).
- ◆ **1951.** Células madre en sangre periférica en ratones (PBSC) (Brecher *et al.*).
- ◆ **1964.** PBSC en humanos (Freireich *et al.*).
- ◆ **1977.** Primer PBSCT en perros (Cavins *et al.*).
- ◆ **1986.** Primer PBSCT y criopreservación en humanos (Kessinger *et al.*).
- ◆ **1993.** Primer PBSCT humano con selección de células CD34<sup>+</sup> (Shpall *et al.*).

## **Transplante de médula ósea (BMT) vs. PBSCT.**

| <b>BMT</b>                     | <b>PBSCT</b>                    |
|--------------------------------|---------------------------------|
| Paciente internado.            | Paciente no internado.          |
| Requiere anestesia.            | Sin anestesia.                  |
| Reconstitución inmune a 1 año. | Reconstitución inmune temprana. |
| 10 veces más células madre.    | 10 veces más linfocitos T.      |
| Amplia experiencia.            | Poca experiencia.               |

## ***Ventajas del PBSCT.***

- ◆ No hay necesidad de hospitalizar al donador de PBSC.
- ◆ No precisa ningún tipo de anestesia.
- ◆ Rápida recuperación hematopoyética en el receptor.
- ◆ Buen recurso para pacientes en quienes es difícil obtener médula ósea.

## Fases del PBSCT.



## ***Mobilización de células madre a sangre periférica.***

- ◆ La administración de GM-CSF aumenta a más de  $30 \times 10^6$  el número de GM-CFU.
- ◆ La administración de quimioterapia por 4 o 5 días aumenta 14 veces los valores basales de GM-CFU.
- ◆  $3 \times 10^9$ /kg de GM-CSF.
- ◆ La cantidad óptima de células mononucleares es de  $6-7 \times 10^8$ /kg de peso.

## **Recolección de PBSC.**

- ◆ Se inicia cuando las células CD34<sup>+</sup> son el 0.1% de las células nucleadas.
- ◆ Obtención por aféresis de 60 ml/min por 4 horas.
- ◆ Se prepara en 5 días con un mínimo de  $15 \times 10^6$  células CD34<sup>+</sup>/kg de peso.
- ◆ La mayor parte de la recolección es en la última hora.
- ◆ 5 células CD34<sup>+</sup>/μl de sangre periférica.

## **Procesamiento de PBSC.**

Justificación. (Médula ósea vs sangre periférica).

- ◆ Heterogeneidad entre la población de células madre en médula y sangre periférica.
- ◆ Mayor número de células maduras en sangre periférica.
- ◆ Menor número de células madre (<0.1%) en sangre periférica.
- ◆ En las neoplasias, la presencia de invasión medular.

## Procesamiento de PBSC.

### Métodos.

- ◆ Aféresis.
- ◆ Gradientes de separación por densidad.
- ◆ Selección de células CD34<sup>+</sup>.
- ◆ Eliminación de linfocitos y granulocitos.
- ◆ Expansión *ex vivo*.



## **Procesamiento de PBSC.**

### Problemas del procesamiento.

- ◆ Destrucción de células diferenciadas (eritrocitos, granulocitos, etc).
- ◆ Criopreservación imperfecta por la presencia de células maduras.
- ◆ Toxicidad en la infusión por citocinas y componentes intracelulares.

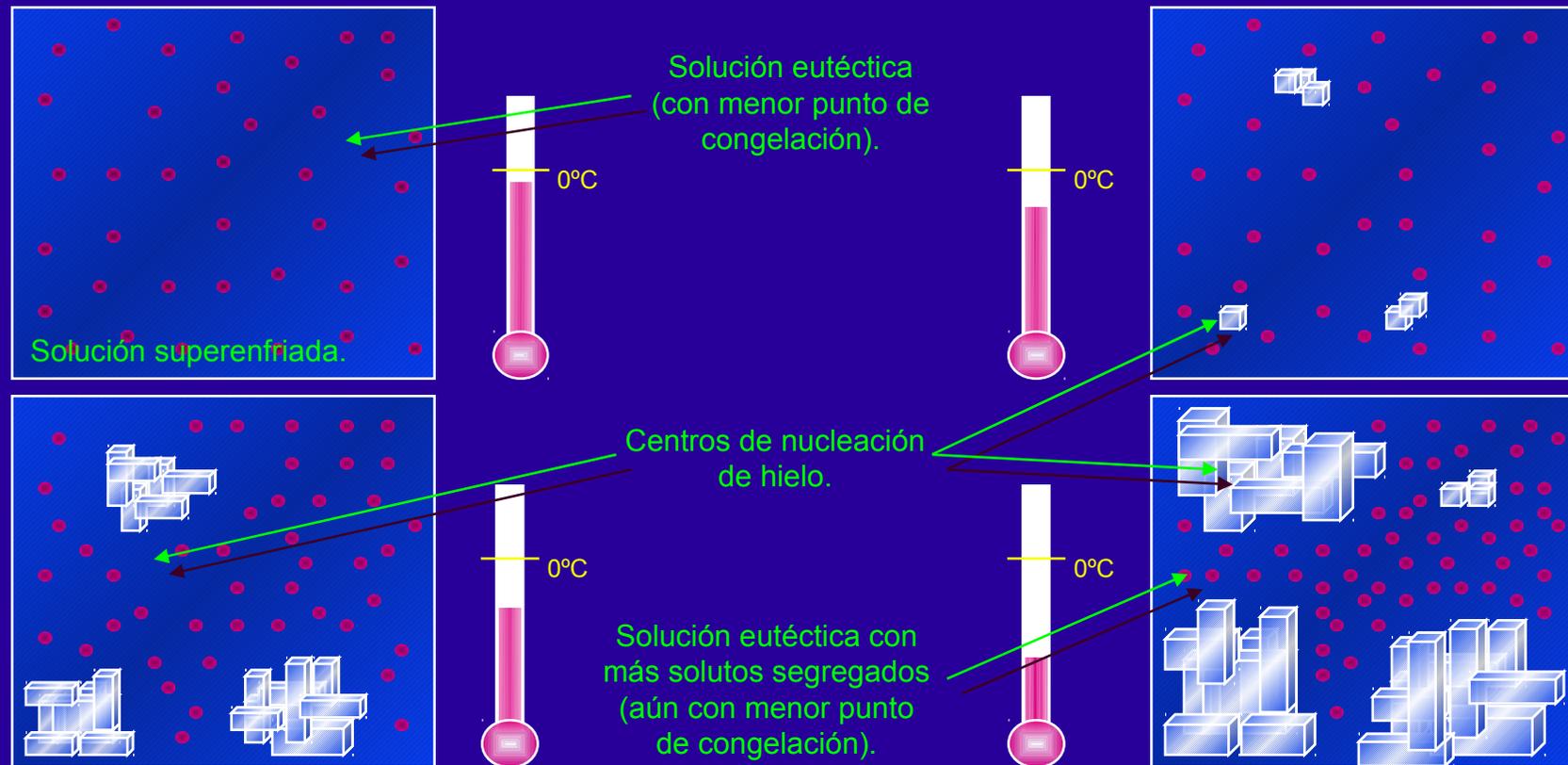
## **Lesión por congelación.**

### Causas de daño celular por congelación.

- ◆ Daño mecánico por formación de hielo intra- y extracelular.
- ◆ Daño mecánico por expansión térmica.
- ◆ Hiperosmolaridad extracelular y deshidratación.
- ◆ Cambios en el pH.
- ◆ Desnaturalización de proteínas.

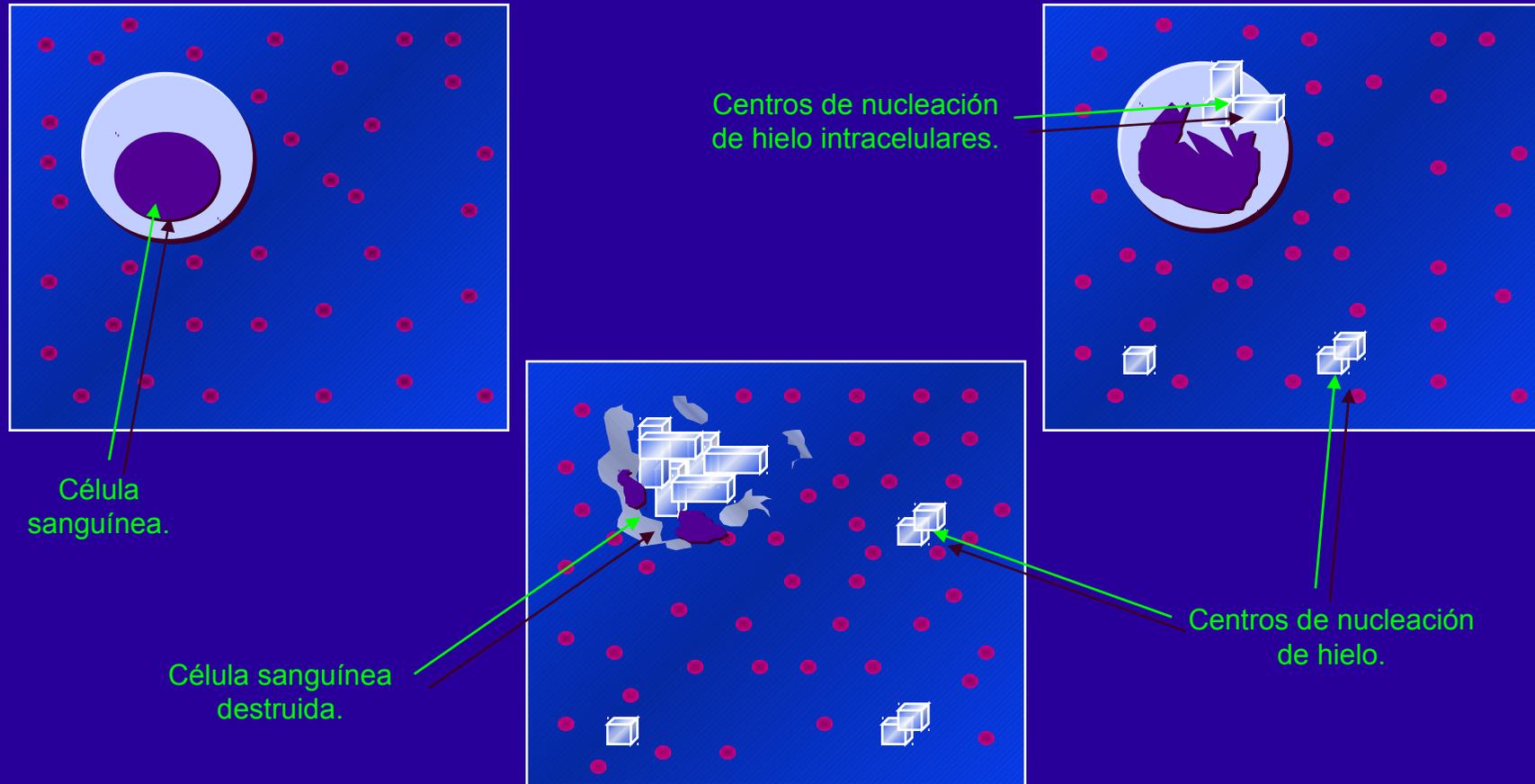
# Teoría de la congelación.

Propiedad coligativa de los solutos.



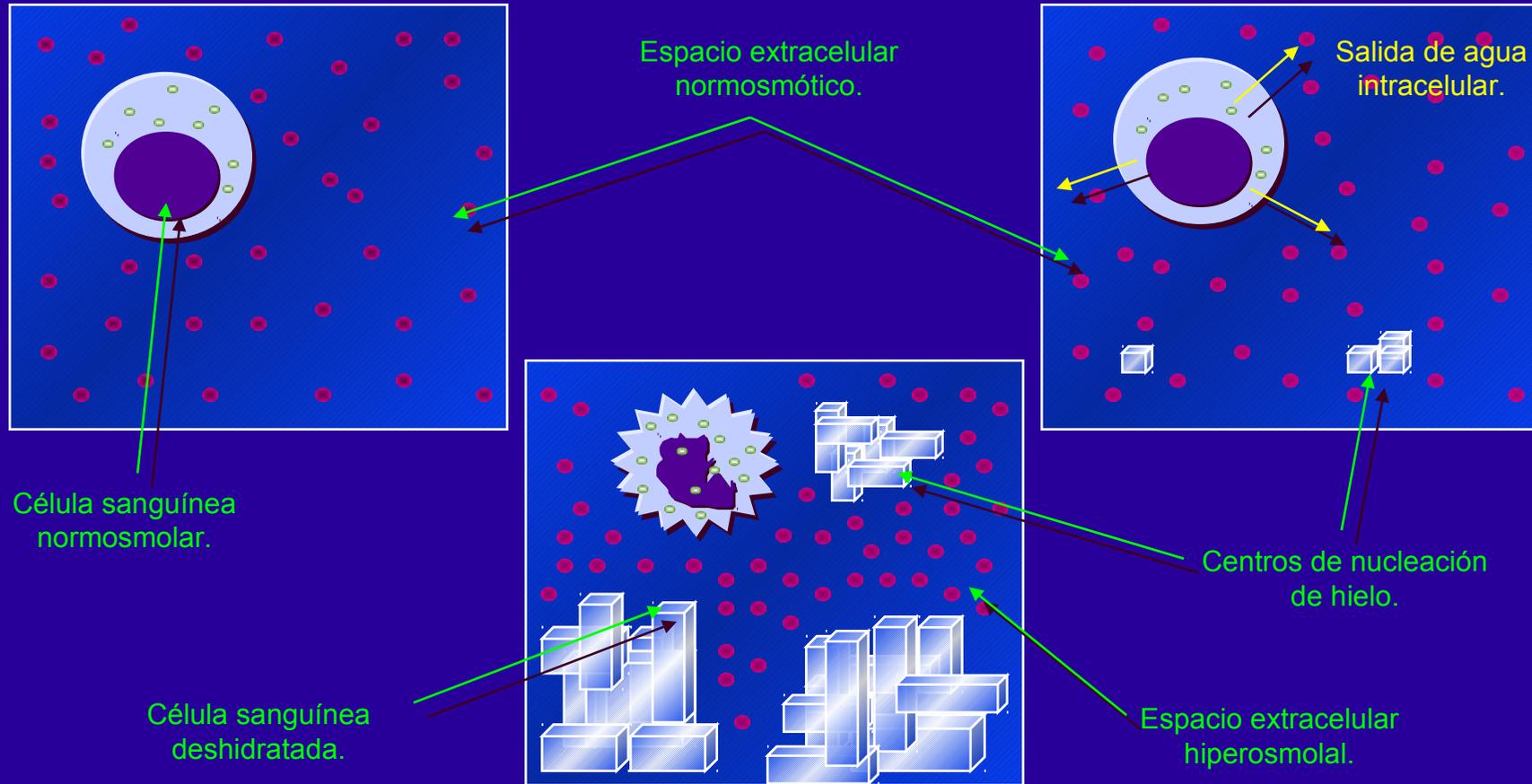
## Lesión por congelación.

Daño mecánico.



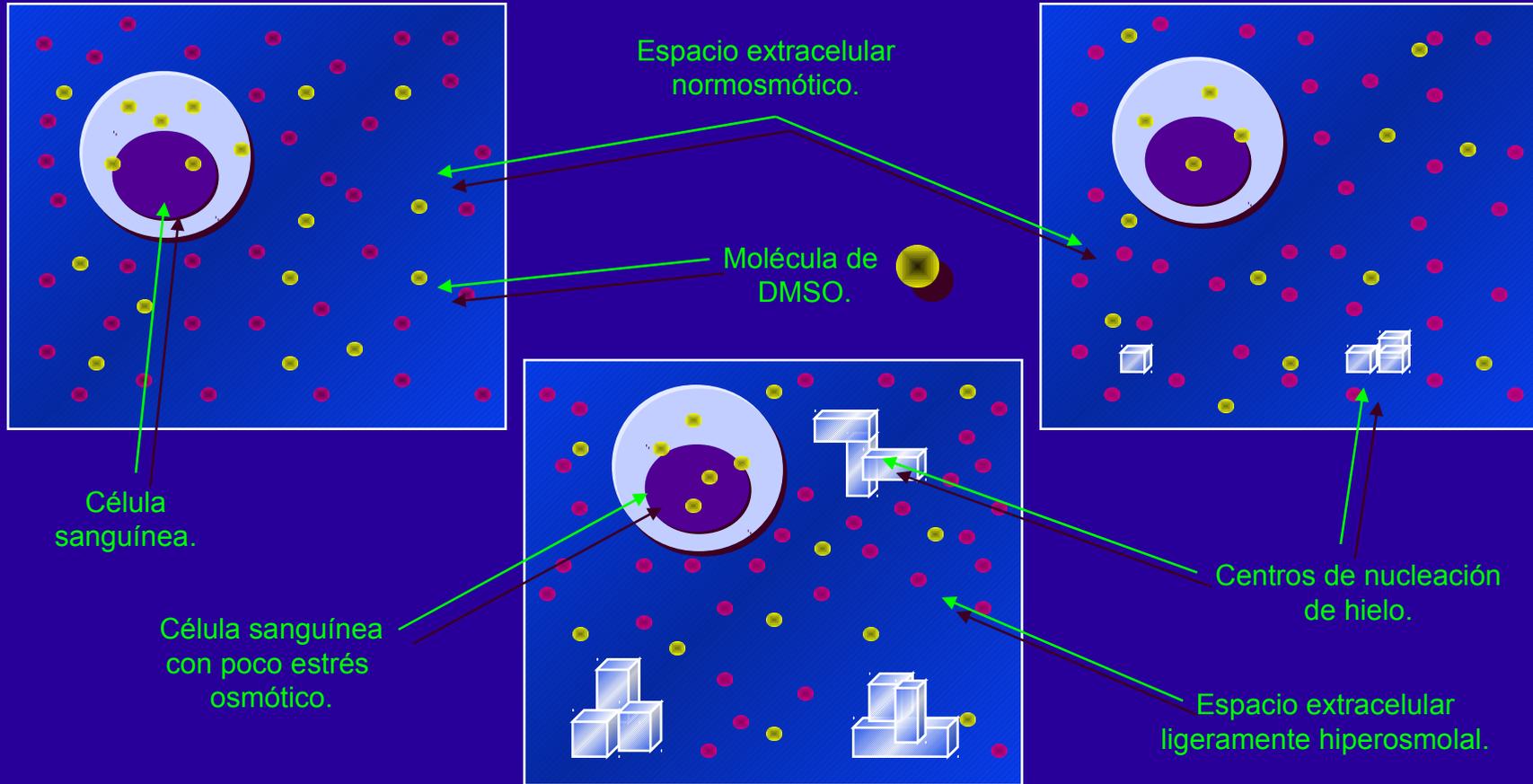
## Lesión por congelación.

Daño osmótico (deshidratación).



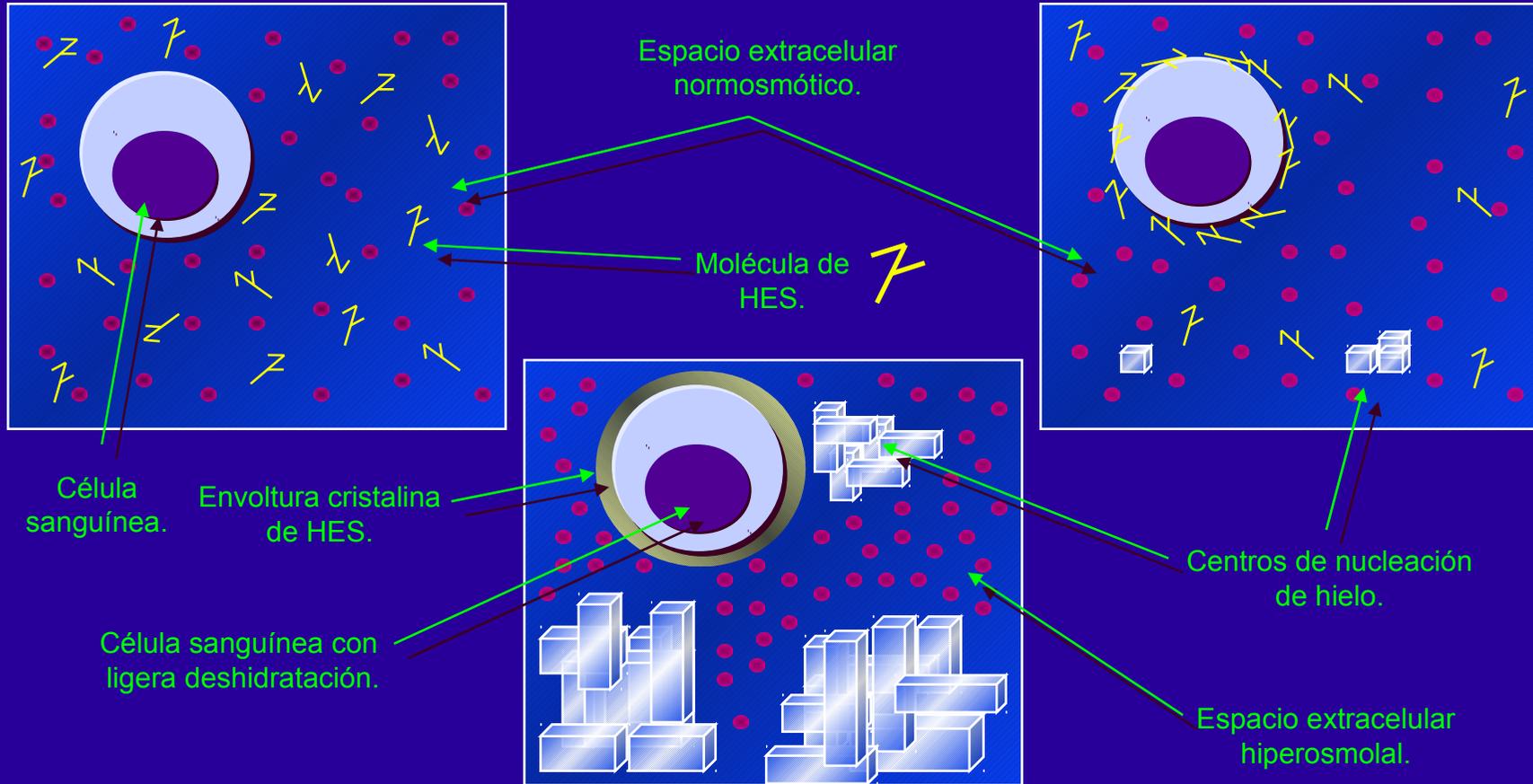
# Crioprotección.

## Mecanismo coligativo.



# Crioprotección.

Mecanismo de la envoltura cristalina.



## **Crioprotectores.**

### Propiedades.

- ◆ No debe ser tóxico para las células a las concentraciones requeridas para la criopreservación.
- ◆ La concentración de los crioprotectores dependerá de la tolerancia de la célula al crioprotector.
- ◆ Debe de ser eliminable antes de la infusión o inocuo para el paciente.

## **Crioprotectores.**

- ◆ Las sustancias crioprotectoras más utilizadas son:
  - ✓ *Glicerol.*
  - ✓ *DMSO (dimetilsulfóxido).*
  - ✓ *Soluciones salino/glucosadas.*
  - ✓ *Proteínas.*
  - ✓ *HES (hidroxietilalmidón).*

## **Crioprotectores.**

Glicerol y dimetilsulfóxido (DMSO).

- ◆ Crioprotectores coligativos previenen la deshidratación y disminuyendo la cantidad de agua absorbida por los cristales de hielo.
- ◆ El DMSO es ligeramente tóxico.
- ◆ Actualmente se utiliza DMSO al 5% con HES al 6% y albúmina sérica humana al 4%.

## **Crioprotectores.**

### Soluciones salino/glucosadas.

- ◆ Glucosa, manitol y sorbitol a concentraciones mayores de 0.1 molar
- ◆ Estabilizan la membrana celular durante la congelación o deshidratación.
- ◆ La glucosa protege contra la citotoxicidad celular a altas concentraciones de DMSO.

## **Crioprotectores.**

### Proteínas.

- ◆ Aumentan la supervivencia de las células cuando se agregan a la solución crioprotectora.
- ◆ Modifican la viscosidad y la temperatura de la transición hialina de la solución crioprotectora.
- ◆ La fuente puede ser autóloga.

## ***Soluciones crioprotectoras.***

### **Hidroxietilalmidón (HES).**

- ◆ Sustancia polimérica con cadenas de diferentes pesos moleculares que no penetra la célula de forma libre.
- ◆ Protege a la célula formando una capa viscosa y hialina que retarda el movimiento de agua.

## **Almacenamiento.**

- ◆ Congeladores mecánicos.  
-120°C a -86°C.
- ◆ Congelador de nitrógeno líquido.  
-196°C a -142°C.



## **Almacenamiento.**

- ◆ Almacenamiento de células criopreservadas es en bolsas de plástico de PVC/poliolefin y en frascos de polietileno.
- ◆ Las bolsas se colocan en cassettes de aluminio.



## ***Velocidad de congelación controlada.***

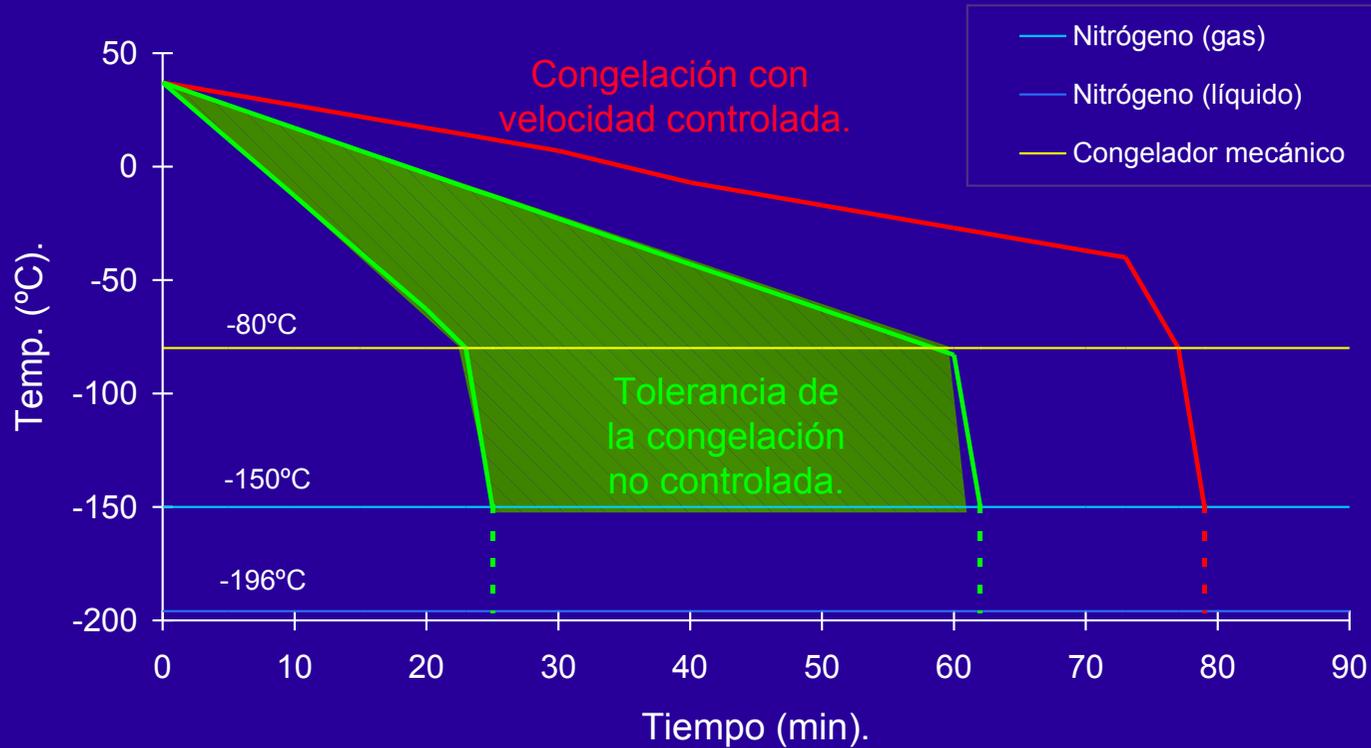
- ◆ DMSO al 10 %.
- ◆ Concentración celular  $50 \times 10^6/\text{ml}$ .
- ◆ Velocidad inicial de  $-1^\circ\text{C}/\text{min}$ .
- ◆ En  $-40^\circ\text{C}$  incrementar a  $-10^\circ\text{C}/\text{min}$ .
- ◆ En  $-80^\circ\text{C}$  colocar en la fase gaseosa de nitrógeno líquido hasta  $-146^\circ\text{C}$ .

## ***Velocidad de congelación no controlada.***

- ◆ DMSO al 5 % con HES al 6 %.
- ◆ Concentración celular de  $10^9$ /ml.
- ◆ Colocan en bolsas de almacenamiento en un congelador mecánico a  $-80^{\circ}\text{C}$ .
- ◆ En los  $-80^{\circ}\text{C}$  incrementar a  $10-16^{\circ}\text{C}/\text{min}$  la velocidad hasta  $-146^{\circ}\text{C}$ .
- ◆ Almacenar en la fase gaseosa de nitrógeno líquido.

# Velocidad de congelación.

Controlada vs no controlada.



## ***Ventajas de la congelación no controlada.***

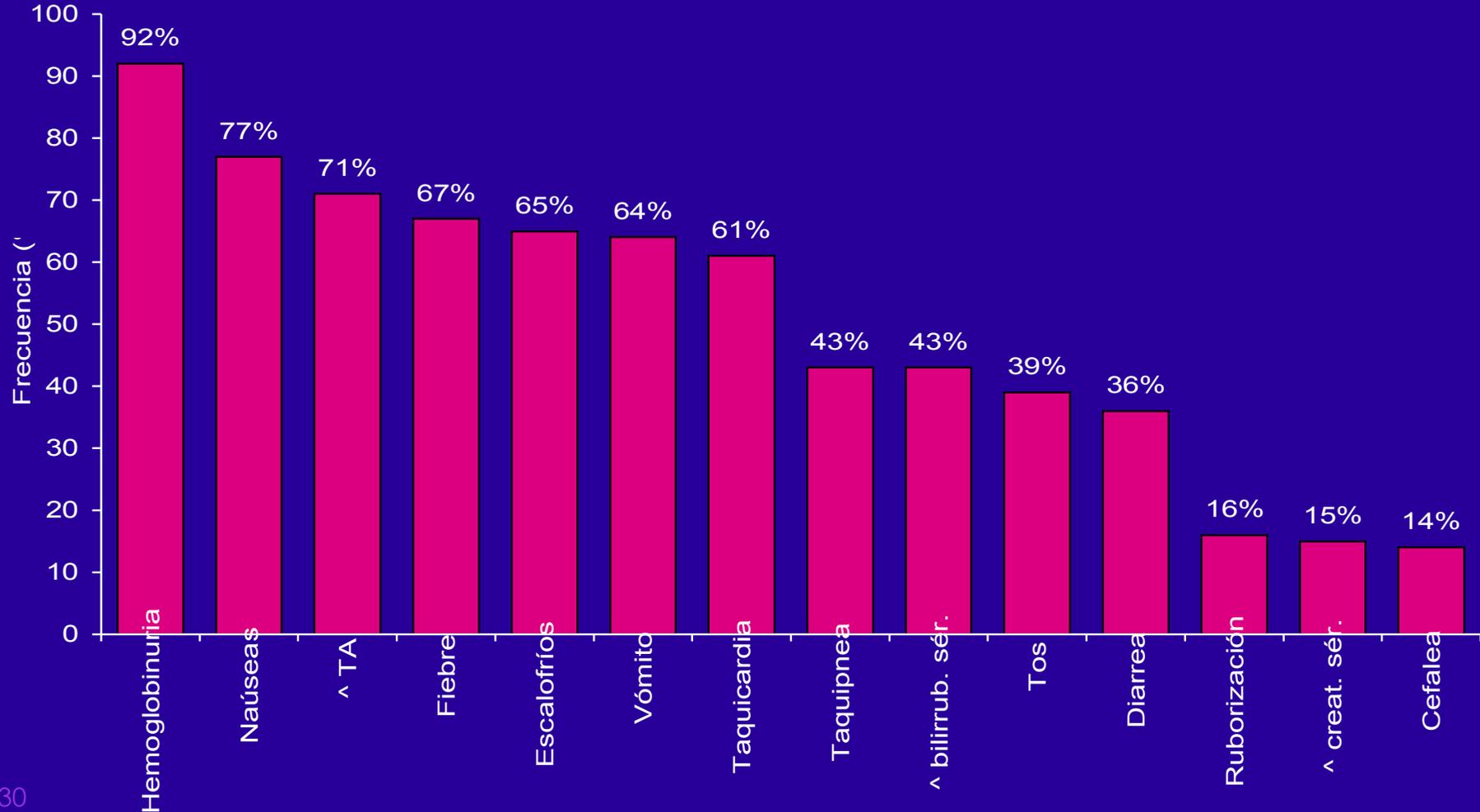
- ◆ Menor costo.
- ◆ Menor tiempo técnico.
- ◆ El HES previene la lisis de granulocitos durante el descongelamiento.
- ◆ Usando DMSO al 5% disminuyen las reacciones tóxicas durante la infusión.
- ◆ Sencillo.
- ◆ Menos espacio en el congelador.

## **Descongelamiento.**

- ◆ Descongelamiento rápido.  
Velocidad  $>100^{\circ}\text{C}/\text{min}$  a  $37^{\circ}\text{C}$  en baño María.
- ◆ Se tiene mejor tasa de supervivencia celular con descongelamiento rápido ( $>100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) que con descongelamiento lento ( $<5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ).



## Efectos asociados a la infusión de PBSC.



## ***Efectos asociados a la infusión de PBSC.***

- ◆ Los efectos colaterales de la infusión de PBSC se minimizan reduciendo el volumen total y las células rojas infundidas.
- ◆ Los métodos de selección celular disminuyen los efectos colaterales y mejoran la velocidad de respuesta del injerto.

## **Control de calidad de la criopreservación.**

### *Valoración in vitro.*

- ◆ **Conteo (citometría)** (*tasas de recuperación de células mononucleares, CD34<sup>+</sup>, eritrocitos y PMN*).
- ◆ **Ensayos metabólicos.**
- ◆ **Prueba de viabilidad por exclusión de tinción** (*con azul de trípano o yoduro de propidio*).
- ◆ **Cultivo de CFU-GM** (*con dilución seriada de DMSO y adición de sorbitol*).

## **Indicaciones.**

### Usos del PBSCT.

- ◆ Neoplasias.
  - Rescate medular posterior a radioterapia o quimioterapia de altas dosis.
    - ✓ *Tumores sólidos.*
    - ✓ *Leucemias, linfomas y mielomas.*
- ◆ Hipoplasias medulares.
  - ✓ *Anemia aplásica, trastornos genéticos.*
- ◆ Las mismas indicaciones que el BMT.

## **Indicaciones.**

### Usos específicos del PBSCT.

- ◆ Irradiación pélvica.
- ◆ Infiltración neoplásica de la médula ósea.
- ◆ Hipoplasia de médula ósea.
- ◆ Neoplasia pélvica paramedular.

## **Indicaciones.**

### Neoplasias tratadas con PBSCT autólogo.

- ◆ Leucemias crónicas.
- ◆ Leucemias agudas.
- ◆ Linfomas no Hodgkin.
- ◆ Linfomas Hodgkin.
- ◆ Mielomas múltiples.
- ◆ Ca de mama.
- ◆ Ca de ovario.
- ◆ Sarcoma de tejidos blandos.
- ◆ Ca. de pulmón de células pequeñas.
- ◆ Neuroblastoma.
- ◆ Tumor de Wilms.
- ◆ Otros tumores sólidos.

## **Recuperación.**

### Factores de recuperación después del PBSCT.

- ◆ Uso de movilizador.
- ◆ Uso de selección y expansión celular *ex vivo*.
- ◆ Leucoféresis.
- ◆ Tiempo de almacenamiento.
- ◆ Origen alogénico o autólogo.
- ◆ Soporte mieloestimulante post-transplante.
- ◆ Mielofibrosis.

## **Recuperación.**

Parámetros de éxito del PBSCT.

- ◆  $ANC \geq 500$  células/ $\mu\text{L}$ .
- ◆  $PLT \geq 50,000$  plaquetas/ $\mu\text{L}$ .

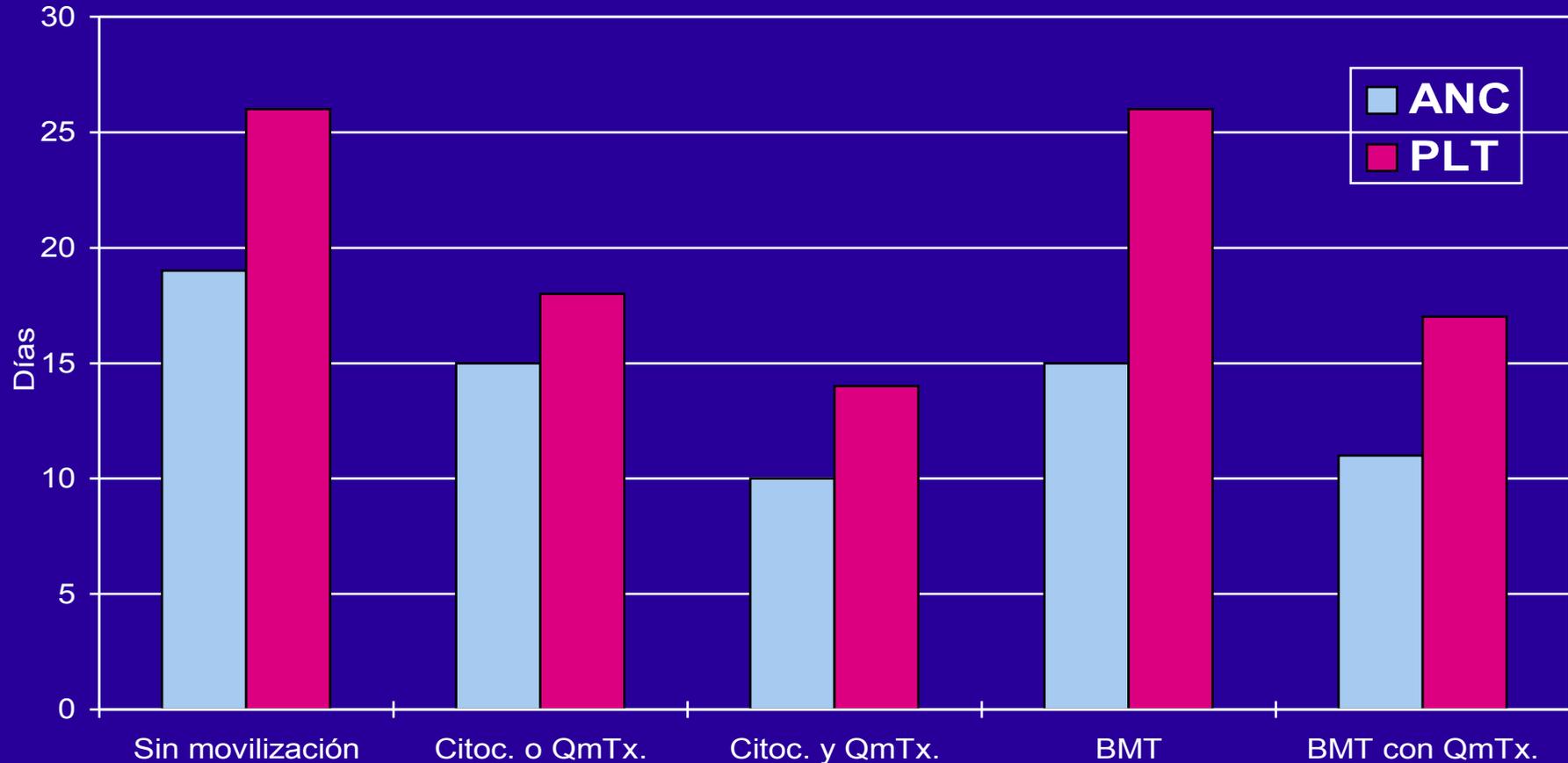
## **Recuperación.**

### Complicaciones posteriores al PBSCT.

- ◆ Toxicidad del criopreservador.
- ◆ Hemorragia.
- ◆ Infecciones (hongos, CMV, *p. carinii*).
- ◆ Falla del trasplante.
- ◆ Rechazo del trasplante.
- ◆ GVHD aguda y crónica.
- ◆ Problemas psicológicos.
- ◆ Otros asociados al tratamiento radio- y/o quimioterapéutico.

## Recuperación.

Recuperación posterior al PBSCT autólogo vs BMT autólogo.



## **Técnicas en desarrollo.**

- ◆ Selección celular múltiple.
- ◆ Nuevos mieloestimulantes post-transplante.
- ◆ Expansión *ex vivo*.
- ◆ Terapia genética *ex vivo*.
- ◆ Aplicación en enfermedades autoinmunes.
- ◆ PBSCT alogénico sin compatibilidad HLA.
- ◆ Vitricación como método criopreservador.
- ◆ Protocolos de PBSCT y quimioterapia seriados.

## **Conclusiones.**

- ◆ El PBSCT es superior al BMT en todas las aplicaciones si se utiliza selección celular.
- ◆ El uso de DMSO/HES con velocidad de congelación no controlada es el mejor método criopreservador.
- ◆ Las nuevas técnicas de selección y expansión celular ampliarán la aplicación del PBSCT.
- ◆ Muchos protocolos y agentes quimioterapéuticos antes imposibles podrán aplicarse con el PBSCT.
- ◆ El PBSCT está substituyendo al BMT, tanto el autólogo como el alogénico.

## Criopreservación de células madre de sangre periférica.

---

## **Introducción.**

- ◆ Criopreservación:
  - ✓ *Técnicas para conservar tejidos vivos a bajas temperaturas.*
  
- ◆ Transplante de células madre de sangre periférica (PBSCT):
  - ✓ *Transplante autólogo o alogénico de células madre pluripotenciales obtenidas de sangre periférica (no de médula ósea).*

## **Antecedentes.**

- ◆ **1949.** Glicerol como crioprotector. (Polge *et al.*).
- ◆ **1951.** Células madre en sangre periférica en ratones (PBSC) (Brecher *et al.*).
- ◆ **1964.** PBSC en humanos (Freireich *et al.*).
- ◆ **1977.** Primer PBSCT en perros (Cavins *et al.*).
- ◆ **1986.** Primer PBSCT y criopreservación en humanos (Kessinger *et al.*).
- ◆ **1993.** Primer PBSCT humano con selección de células CD34<sup>+</sup> (Shpall *et al.*).

## **Transplante de médula ósea (BMT) vs. PBSCT.**

| <b>BMT</b>                     | <b>PBSCT</b>                    |
|--------------------------------|---------------------------------|
| Paciente internado.            | Paciente no internado.          |
| Requiere anestesia.            | Sin anestesia.                  |
| Reconstitución inmune a 1 año. | Reconstitución inmune temprana. |
| 10 veces más células madre.    | 10 veces más linfocitos T.      |
| Amplia experiencia.            | Poca experiencia.               |

## ***Ventajas del PBSCT.***

- ◆ No hay necesidad de hospitalizar al donador de PBSC.
- ◆ No precisa ningún tipo de anestesia.
- ◆ Rápida recuperación hematopoyética en el receptor.
- ◆ Buen recurso para pacientes en quienes es difícil obtener médula ósea.

## Fases del PBSCT.



5

### ***Mobilización de células madre a sangre periférica.***

- ◆ La administración de GM-CSF aumenta a más de  $30 \times 10^6$  el número de GM-CFU.
- ◆ La administración de quimioterapia por 4 o 5 días aumenta 14 veces los valores basales de GM-CFU.
- ◆  $3 \times 10^9$ /kg de GM-CSF.
- ◆ La cantidad óptima de células mononucleares es de  $6-7 \times 10^8$ /kg de peso.

## **Recolección de PBSC.**

- ◆ Se inicia cuando las células CD34<sup>+</sup> son el 0.1% de las células nucleadas.
- ◆ Obtención por aféresis de 60 ml/min por 4 horas.
- ◆ Se prepara en 5 días con un mínimo de  $15 \times 10^6$  células CD34<sup>+</sup>/kg de peso.
- ◆ La mayor parte de la recolección es en la última hora.
- ◆ 5 células CD34<sup>+</sup>/μl de sangre periférica.

## **Procesamiento de PBSC.**

Justificación. (Médula ósea vs sangre periférica).

- ◆ Heterogeneidad entre la población de células madre en médula y sangre periférica.
- ◆ Mayor número de células maduras en sangre periférica.
- ◆ Menor número de células madre (<0.1%) en sangre periférica.
- ◆ En las neoplasias, la presencia de invasión medular.

## Procesamiento de PBSC.

### Métodos.

- ◆ Aféresis.
- ◆ Gradientes de separación por densidad.
- ◆ Selección de células CD34<sup>+</sup>.
- ◆ Eliminación de linfocitos y granulocitos.
- ◆ Expansión *ex vivo*.



## **Procesamiento de PBSC.**

### Problemas del procesamiento.

- ◆ Destrucción de células diferenciadas (eritrocitos, granulocitos, etc).
- ◆ Criopreservación imperfecta por la presencia de células maduras.
- ◆ Toxicidad en la infusión por citocinas y componentes intracelulares.

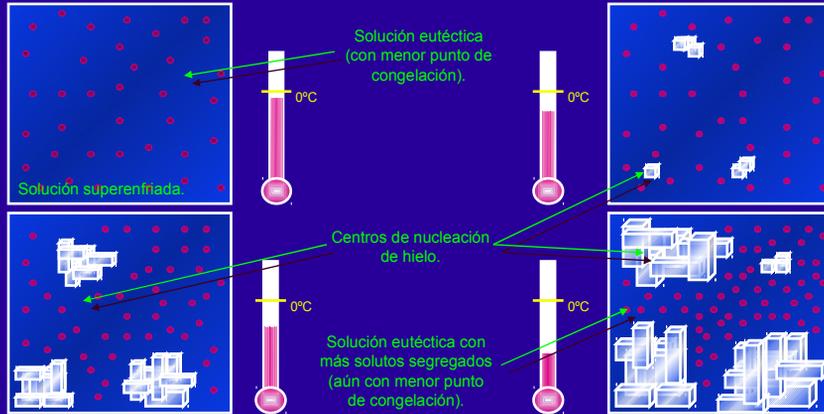
## ***Lesión por congelación.***

### **Causas de daño celular por congelación.**

- ◆ Daño mecánico por formación de hielo intra- y extracelular.
- ◆ Daño mecánico por expansión térmica.
- ◆ Hiperosmolaridad extracelular y deshidratación.
- ◆ Cambios en el pH.
- ◆ Desnaturalización de proteínas.

## Teoría de la congelación.

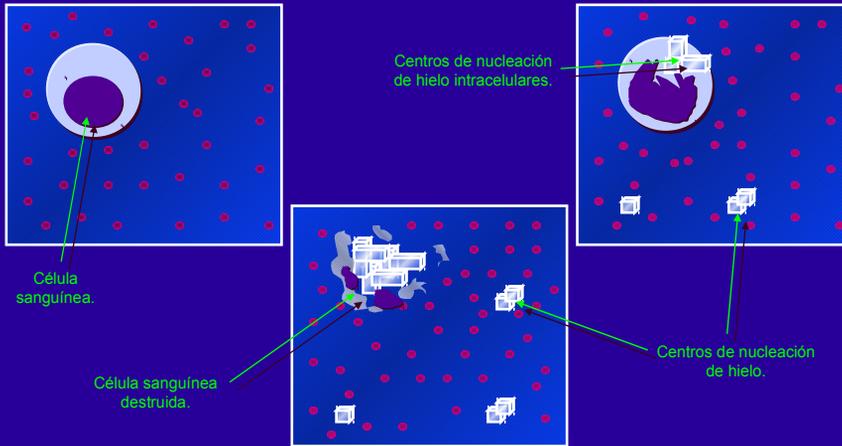
Propiedad coligativa de los solutos.



12

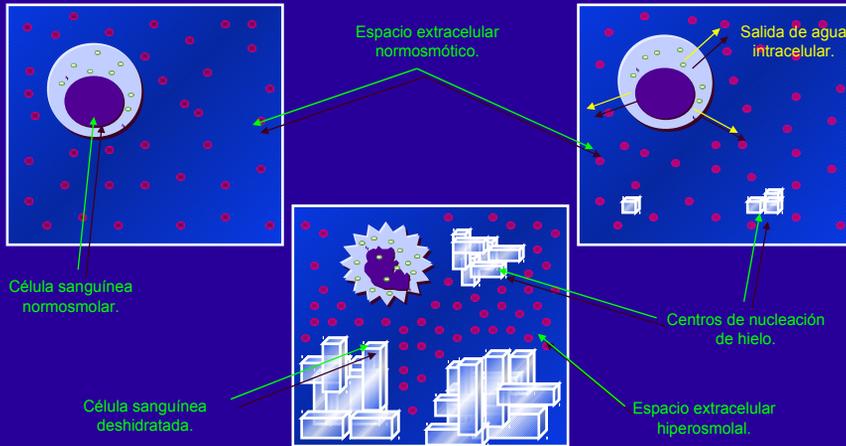
## Lesión por congelación.

Daño mecánico.



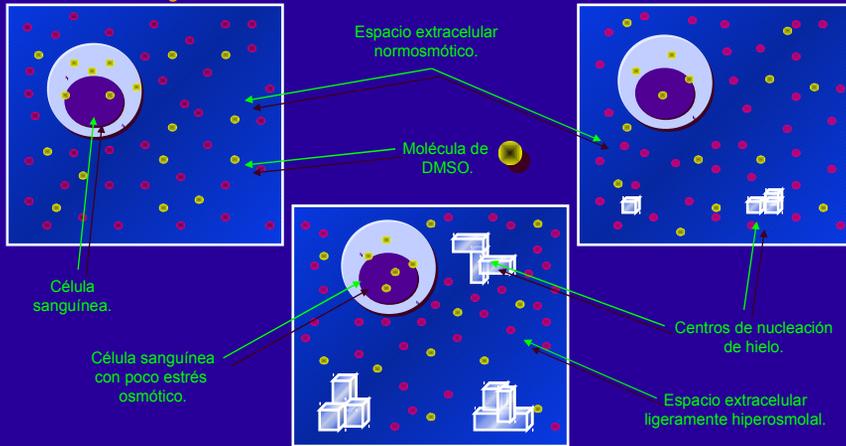
## Lesión por congelación.

Daño osmótico (deshidratación).



## Crioprotección.

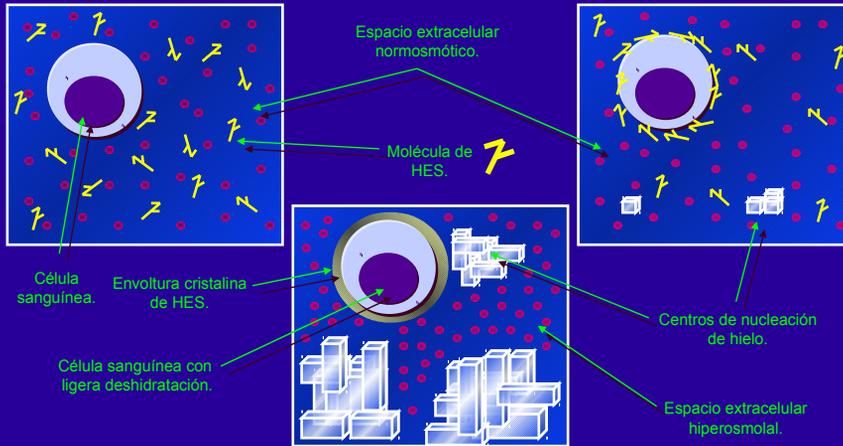
### Mecanismo coligativo.



15

## Crioprotección.

Mecanismo de la envoltura cristalina.



## **Crioprotectores.**

### Propiedades.

- ◆ No debe ser tóxico para las células a las concentraciones requeridas para la criopreservación.
- ◆ La concentración de los crioprotectores dependerá de la tolerancia de la célula al crioprotector.
- ◆ Debe de ser eliminable antes de la infusión o inocuo para el paciente.

## **Crioprotectores.**

- ◆ Las sustancias crioprotectoras más utilizadas son:
  - ✓ *Glicerol.*
  - ✓ *DMSO (dimetilsulfóxido).*
  - ✓ *Soluciones salino/glucosadas.*
  - ✓ *Proteínas.*
  - ✓ *HES (hidroxietilalmidón).*

## **Crioprotectores.**

Glicerol y dimetilsulfóxido (DMSO).

- ◆ Crioprotectores coligativos previenen la deshidratación y disminuyendo la cantidad de agua absorbida por los cristales de hielo.
- ◆ El DMSO es ligeramente tóxico.
- ◆ Actualmente se utiliza DMSO al 5% con HES al 6% y albúmina sérica humana al 4%.

## **Crioprotectores.**

### Soluciones salino/glucosadas.

- ◆ Glucosa, manitol y sorbitol a concentraciones mayores de 0.1 molar
- ◆ Estabilizan la membrana celular durante la congelación o deshidratación.
- ◆ La glucosa protege contra la citotoxicidad celular a altas concentraciones de DMSO.

## **Crioprotectores.**

### Proteínas.

- ◆ Aumentan la supervivencia de las células cuando se agregan a la solución crioprotectora.
- ◆ Modifican la viscosidad y la temperatura de la transición hialina de la solución crioprotectora.
- ◆ La fuente puede ser autóloga.

## **Soluciones crioprotectoras.**

### Hidroxietilalmidón (HES).

- ◆ Sustancia polimérica con cadenas de diferentes pesos moleculares que no penetra la célula de forma libre.
- ◆ Protege a la célula formando una capa viscosa y hialina que retarda el movimiento de agua.

## **Almacenamiento.**

- ◆ Congeladores mecánicos.  
-120°C a -86°C.
- ◆ Congelador de nitrógeno líquido.  
-196°C a -142°C.



## **Almacenamiento.**

- ◆ Almacenamiento de células criopreservadas es en bolsas de plástico de PVC/poliolefin y en frascos de polietileno.
- ◆ Las bolsas se colocan en cassettes de aluminio.



### ***Velocidad de congelación controlada.***

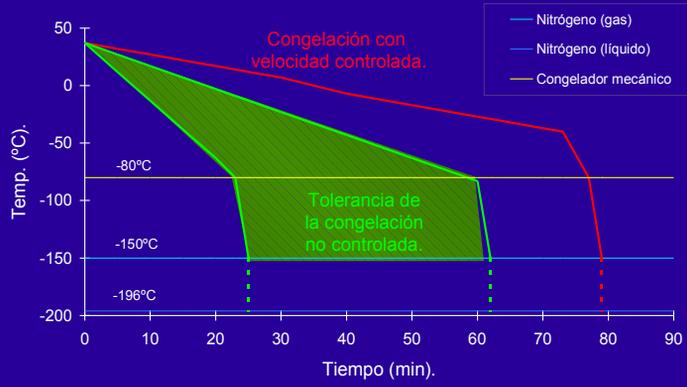
- ◆ DMSO al 10 %.
- ◆ Concentración celular  $50 \times 10^6$ /ml.
- ◆ Velocidad inicial de  $-1^\circ\text{C}/\text{min}$ .
- ◆ En  $-40^\circ\text{C}$  incrementar a  $-10^\circ\text{C}/\text{min}$ .
- ◆ En  $-80^\circ\text{C}$  colocar en la fase gaseosa de nitrógeno líquido hasta  $-146^\circ\text{C}$ .

### ***Velocidad de congelación no controlada.***

- ◆ DMSO al 5 % con HES al 6 %.
- ◆ Concentración celular de  $10^9$ /ml.
- ◆ Colocan en bolsas de almacenamiento en un congelador mecánico a  $-80^{\circ}\text{C}$ .
- ◆ En los  $-80^{\circ}\text{C}$  incrementar a  $10-16^{\circ}\text{C}/\text{min}$  la velocidad hasta  $-146^{\circ}\text{C}$ .
- ◆ Almacenar en la fase gaseosa de nitrógeno líquido.

## Velocidad de congelación.

Controlada vs no controlada.



### ***Ventajas de la congelación no controlada.***

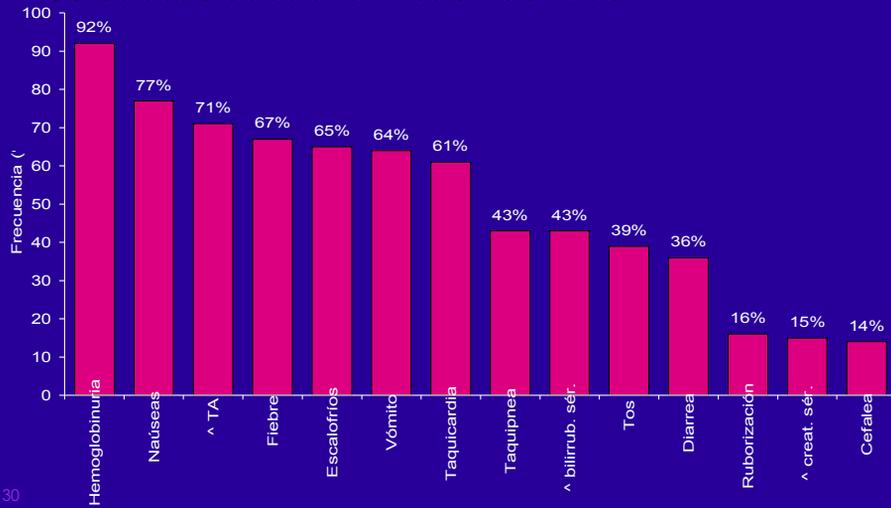
- ◆ Menor costo.
- ◆ Menor tiempo técnico.
- ◆ El HES previene la lisis de granulocitos durante el descongelamiento.
- ◆ Usando DMSO al 5% disminuyen las reacciones tóxicas durante la infusión.
- ◆ Sencillo.
- ◆ Menos espacio en el congelador.

## **Descongelamiento.**

- ◆ Descongelamiento rápido.  
Velocidad  $>100^{\circ}\text{C}/\text{min}$  a  $37^{\circ}\text{C}$  en baño María.
- ◆ Se tiene mejor tasa de supervivencia celular con descongelamiento rápido ( $>100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) que con descongelamiento lento ( $<5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ).



## Efectos asociados a la infusión de PBSC.



30

### ***Efectos asociados a la infusión de PBSC.***

- ◆ Los efectos colaterales de la infusión de PBSC se minimizan reduciendo el volumen total y las células rojas infundidas.
- ◆ Los métodos de selección celular disminuyen los efectos colaterales y mejoran la velocidad de respuesta del injerto.

## **Control de calidad de la criopreservación.**

### *Valoración in vitro.*

- ◆ **Conteo (citometría)** (*tasas de recuperación de células mononucleares, CD34<sup>+</sup>, eritrocitos y PMN*).
- ◆ **Ensayos metabólicos.**
- ◆ **Prueba de viabilidad por exclusión de tinción** (*con azul de tripano o yoduro de propidio*).
- ◆ **Cultivo de CFU-GM** (*con dilución seriada de DMSO y adición de sorbitol*).

## **Indicaciones.**

### Usos del PBSCT.

- ◆ **Neoplasias.**
  - Rescate medular posterior a radioterapia o quimioterapia de altas dosis.
  - ✓ *Tumores sólidos.*
  - ✓ *Leucemias, linfomas y mielomas.*
- ◆ **Hipoplasias medulares.**
  - ✓ *Anemia aplásica, trastornos genéticos.*
- ◆ **Las mismas indicaciones que el BMT.**

El PBSCT tiene las mismas indicaciones que el BMT. Se prefiere el PBSCT cuando la extracción de médula ósea es difícil, infactible o riesgosa, como en los casos de irradiación pélvica, infiltración neoplásica de la médula ósea, hipoplasia medular o neoplasia pélvica paramedular.

El PBSCT puede ser autogénico o alogénico. En ambos casos se busca la restauración de la médula ósea después de utilizar quimioterapia mieloablativa o radioterapia extensa. Esto permite tener más libertad respecto a la intensidad de los tratamiento oncológico sin temor a la mielosupresión. En los casos de PBSCT alogénico, también se puede utilizar en el tratamiento de enfermedades hipoplásicas medulares.

Con el perfeccionamiento de las técnicas de movilización, recolección y preservación, seguramente el PBSCT substituirá al BMT.

## **Indicaciones.**

### Usos específicos del PBSCT.

- ◆ Irradiación pélvica.
- ◆ Infiltración neoplásica de la médula ósea.
- ◆ Hipoplasia de médula ósea.
- ◆ Neoplasia pélvica paramedular.

Se prefiere el PBSCT cuando la extracción de médula ósea es difícil, infactible o riesgosa, como en los casos de irradiación pélvica, infiltración neoplásica de la médula ósea, hipoplasia medular o neoplasia pélvica paramedular.

Con el perfeccionamiento de las técnicas de movilización, recolección y preservación, seguramente el PBSCT substituirá al BMT.

## Indicaciones.

### Neoplasias tratadas con PBSCT autólogo.

- ♦ Leucemias crónicas.
- ♦ Leucemias agudas.
- ♦ Linfomas no Hodgkin.
- ♦ Linfomas Hodgkin.
- ♦ Mielomas múltiples.
- ♦ Ca de mama.
- ♦ Ca de ovario.
- ♦ Sarcoma de tejidos blandos.
- ♦ Ca. de pulmón de células pequeñas.
- ♦ Neuroblastoma.
- ♦ Tumor de Wilms.
- ♦ Otros tumores sólidos.

Se ha probado el PBSCT autogénico en las siguientes neoplasias:

|                      |                                    |
|----------------------|------------------------------------|
| Leucemias crónicas.  | Ca. de ovario.                     |
| Leucemias agudas.    | Ca. de mama.                       |
| Linfomas Hodgkin.    | Sarcomas de tejidos blandos.       |
| Linfomas no Hodgkin. | Ca. de pulmón de células pequeñas. |
| Mieloma múltiple.    | Neuroblastoma.                     |
|                      | Tumor de Wilms.                    |
|                      | Otros tumores sólidos.             |

Con el perfeccionamiento de las técnicas de movilización, recolección y preservación, seguramente el PBSCT substituirá al BMT.

## Recuperación.

### Factores de recuperación después del PBSCT.

- ◆ Uso de movilizador.
- ◆ Uso de selección y expansión celular *ex vivo*.
- ◆ Leucoféresis.
- ◆ Tiempo de almacenamiento.
- ◆ Origen alogénico o autólogo.
- ◆ Soporte mieloestimulante post-transplante.
- ◆ Mielofibrosis.

La velocidad y la tasa de recuperación depende en gran medida de la cantidad total de PBSC que se apliquen al paciente; y ésta depende del movilizador utilizado, si hubo o no selección celular y del dispositivo de aféresis.

La mejor movilización es con una combinación de citocinas y quimioterapéuticos (mejor GM-CSF que G-CSF, con ciclofosfamida o con otro quimioterapéutico).

La mejor selección se hace tomando como referencia la presencia o no del receptor CD34.

Con  $1.2 \times 10^6$  células CD34+ /kg se retrasa grandemente la reconstitución de plaquetas.

## **Recuperación.**

Parámetros de éxito del PBSCT.

- ◆  $ANC \geq 500$  células/ $\mu$ L.
- ◆  $PLT \geq 50,000$  plaquetas/ $\mu$ L.

Los parámetros para evaluar la recuperación de la función medular (y por tanto, el éxito del trasplante) son:

ANC 500/L

PLT 50,000/L (en algunos reportes se conforman con PLT 20,000/L)

## Recuperación.

### Complicaciones posteriores al PBSCT.

- ◆ Toxicidad del criopreservador.
- ◆ Hemorragia.
- ◆ Infecciones (hongos, CMV, *p. carinii*).
- ◆ Falla del trasplante.
- ◆ Rechazo del trasplante.
- ◆ GVHD aguda y crónica.
- ◆ Problemas psicológicos.
- ◆ Otros asociados al tratamiento radio- y/o quimioterapéutico.

38

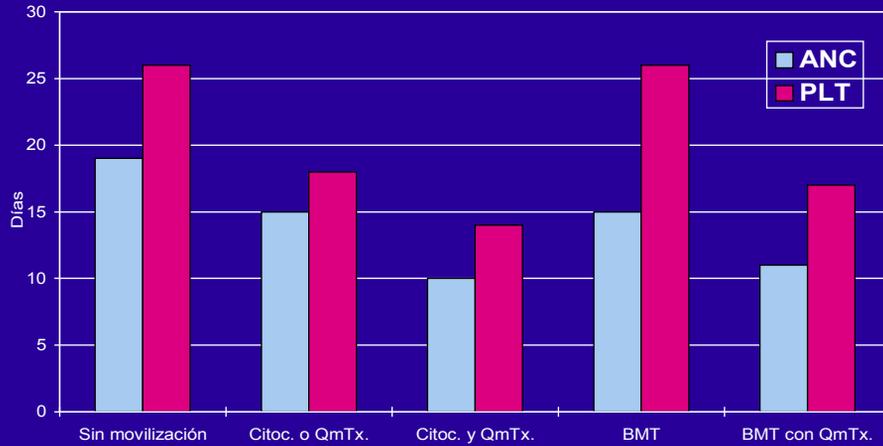
Copyright © Treviño-Quintanilla LE, Treviño-Rangel L, Treviño-Salinas MB, Uriegas-Alejandro A, Valdez-Flores JL, Valdez-Leza CE, Valdez-Ramírez MA, Vázquez-Ayala JA, Vázquez-Cisneros GC, Monterrey, NL, México, Julio de 1998.

La mortalidad y morbilidad después del PBSCT es similar al BMT en términos de frecuencia de infecciones y GVHD.

Los principales problemas (en orden de aparición) son:  
Toxicidad del criopreservador (con DMSO),  
infecciones,  
falla del trasplante,  
GVHD.

## Recuperación.

Recuperación posterior al PBSCT autólogo vs BMT autólogo.



39

Copyright © Treviño-Quintanilla LE, Treviño-Rangel L, Treviño-Salinas MB, Uriegas-Alejandro A, Valdez-Flores JL, Valdez-Leza CE, Valdez-Ramírez MA, Vázquez-Ayala JA, Vázquez-Cisneros GC, Monterrey, NL, México, Julio de 1998.

Tiempos de recuperación después del PBSCT (promedios de datos de una revisión que tomó promedios de otros artículos).

|      | Sin movilización.<br>(días) | Movilización con citocinas o quimiotx.<br>(días) | Movilización con citocinas y quimiotx.<br>(días) |
|------|-----------------------------|--|--|
| ANC: | 19, rango 10-33.            | 15, rango 7-23.                                  | 10, rango 3-17.                                  |
| PLT: | 26, rango 11-43.            | 18, rango 9-38.                                  | 14, rango 0.47.                                  |

## **Técnicas en desarrollo.**

- ◆ Selección celular múltiple.
- ◆ Nuevos mieloestimulantes post-transplante.
- ◆ Expansión *ex vivo*.
- ◆ Terapia genética *ex vivo*.
- ◆ Aplicación en enfermedades autoinmunes.
- ◆ PBSCT alogénico sin compatibilidad HLA.
- ◆ Vitrificación como método criopreservador.
- ◆ Protocolos de PBSCT y quimioterapia seriados.

## **Conclusiones.**

- ◆ El PBSCT es superior al BMT en todas las aplicaciones si se utiliza selección celular.
- ◆ El uso de DMSO/HES con velocidad de congelación no controlada es el mejor método criopreservador.
- ◆ Las nuevas técnicas de selección y expansión celular ampliarán la aplicación del PBSCT.
- ◆ Muchos protocolos y agentes quimioterapéuticos antes imposibles podrán aplicarse con el PBSCT.
- ◆ El PBSCT está substituyendo al BMT, tanto el autólogo como el alogénico.

