

2003



11218
8

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"
I.S.S.S.T.E.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NUMERO: Alejandro Najera Luengo
FECHA: 30/10/2003
FIRMA: [Signature]

**"COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE
DIFERENTES PARAMETROS PRECOSECHA Y
CELULAS CD34+ COSECHADAS POR AFERESIS"**

TESIS DE POSTGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA
EN HEMATOLOGIA

PRESENTA
DR. ALEJANDRO NAJERA LUENGO

DR. MANUEL A. LOPEZ HERNANDEZ
ASESOR

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

NAJERA LUENGO ALEJANDRO





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



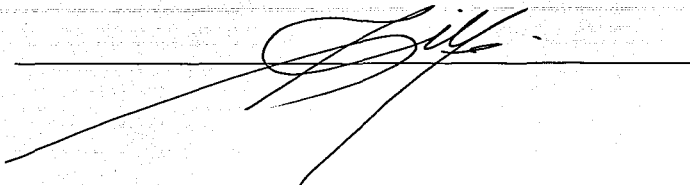
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

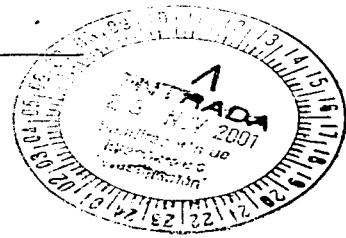
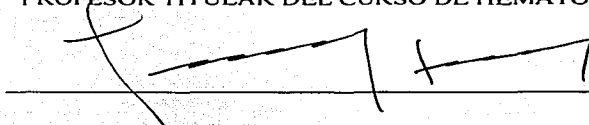
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

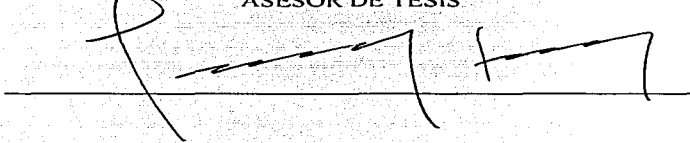
DR. MAURICIO DI SILVIO LÓPEZ
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION



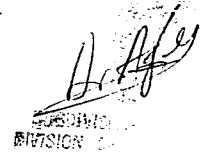
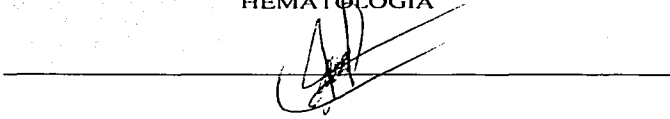
DR. MANUEL A. LÓPEZ HERNÁNDEZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE HEMATOLOGÍA



DR. MANUEL A. LÓPEZ HERNÁNDEZ
ASESOR DE TESIS



DR. ALEJANDRO NAJERA LUENGO
MEDICO RESIDENTE DE LA ESPECIALIDAD DE
HEMATOLOGIA



RESIDENCIO
DIVISION

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

CORRELATION COEFFICIENTS BETWEEN DIFFERENT PRE-HARVESTED VARIABLES AND CD34+ CELLS HARVESTED BY APHERESIS

Abstract.

In order to find out what are the best predictors for an early and rich CD34+ cell harvest, we studied different variables in patients about to undergo peripheral blood stem cell (PBSC) collections by apheresis.

Patients and Methods.

We studied 31 procedures in 15 patients with a variety of malignancies which were under progenitor cell collection for autologous transplantation. The mobilization was done using a single 4 g/msc cyclophosphamide dose plus G-FSC (Neupogen Hoffman-La Roche) at a dose of 10 μ g/k/day. All apheresis procedures were done using Baxter CS-3000-Plus machine. All test were done immediately before starting each apheresis procedure. Number of CD34+ cells were obtained by flow cytometry.

Results.

A total of 15 patients (6 males, 9 females), mean age 32 years (12-50) were studied. Diagnosis were: Chronic Myeloid Leukemia=4, Breast cancer=6, Myeloma Multiple=2, Lymphoma=1, Acute Myeloid Leukemia=1 and Acute Lymphoblastic Leukemia=1. The variables obtained were:

	Million CD34+cells/k
Leukocytes	r=0.014
Hematocrit	r=0.29
Mononuclear Cells/ μ L	r=0.053
Mononuclear Cells/k	r=0.058
Platelets	r=0.19
CD34+ cells/ μ L	r=0.70
CD34+ cells/k	r=0.62
Weight	r=0.12

Conclusions.

As in other groups, our results indicate that the best predictor for a early and rich CD34+ harvest is the number of circulating CD34+ cells/ μ L. We believe that daily measurement of circulating CD34+ cells is a effective way of starting PBSC harvesting early and efficiently as compared with other indicators, such as leukocyte or mononuclear cell counts.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE DIFERENTES VARIABLES PRE-COSECHA Y CELULAS CD34+ COSECHADAS POR AFÉRESIS

Resumen.

Para encontrar cuales son los mejores predictores para una cosecha de células CD34+ temprana y rica, se estudiaron diferentes variables en pacientes sometidos a recolección de células progenitoras de sangre periférica (CPSP) por aféresis.

Pacientes y Métodos.

Se estudiaron 31 procedimientos en 15 pacientes con una variedad de neoplasias, los cuales fueron sometidos a recolección de CPSP para trasplante autologo. La movilización fue realizada usando una sola dosis de ciclofosfamida mas FEC-G (Neupogen Hoffman-La Roche) a dosis de 10µgr/kg/día. Todos los procedimientos de aféresis fueron realizados utilizando una maquina Baxter CS-3000-Plus. Todas las pruebas fueron realizadas inmediatamente antes de iniciar cada procedimiento de aféresis. El número de células CD34+ fue obtenido por citometria de flujo.

Resultados.

Un total de 15 pacientes (6 hombres, 9 mujeres), con una edad media de 32 años (12-50) fueron estudiados. Los diagnósticos fueron: Leucemia Mieloide Crónica = 4, Cáncer de mama = 6, Mieloma Múltiple = 2, Linfoma = 1, Leucemia Aguda no Linfoblástica = 1 y Leucemia Aguda Linfoblástica = 1. Las variables obtenidas fueron:

	Millones de células CD34+/kg
Leucocitos	r=0.014
Hematocrito	r=0.29
Células mononucleares/µL	r=0.053
Células mononucleares/kg	r=0.058
Plaquetas	r=0.19
Células CD34+/µL	r=0.70
Células CD34+/kg	r=0.62
Peso	r=0.12

Conclusiones.

Como en otros grupos, nuestros resultados indican que el mejor predictor para una cosecha temprana y rica de CD34+, es el número circulante de células CD34+/µL. Nosotros creemos que la medición diaria de células CD34+ es una manera efectiva de iniciar una cosecha de CPSP temprana y eficiente comparada con otros indicadores, como el conteo de células mononucleares o leucocitos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE DIFERENTES PARAMETROS
PRECOSECHA Y CELULAS CD34+ COSECHADAS POR AFERESIS.**

ANTECEDENTES: En el tratamiento de diversas enfermedades neoplásicas se utilizan grandes dosis de quimioterapia / radioterapia obteniendo curación en algunas de ellas. Sin embargo, la mielo toxicidad impide la administración de dosis letales de quimioterapia / radioterapia que serian capaces de curar un mayor porcentaje de dichas enfermedades. Teniendo en cuenta esto y los mecanismos fisiológicos de la hematopoyesis, desde 1960 se empezó a experimentar con trasplante autólogo de médula ósea.^{1,2}

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH), pueden obtenerse de la médula ósea, mediante punciones múltiples, ó de la sangre periférica, mediante citaféresis obtenidas de sangre periférica. En el segundo caso, las CPH deben ser movilizadas dentro de la circulación para obtener una recolección óptima. Para la movilización es necesario utilizar quimioterapia, mayormente ciclofosfamida, y factor estimulante de colonias-granulocíticas ó granulocíticas monocíticas.³

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La obtención de CPH en la sangre periférica tiene varias ventajas sobre la de médula ósea:

- a) Puede recolectarse un número grande de CPH.
- b) La cosecha de CPH de sangre periférica es posible aún en pacientes en los que por condiciones secundarias a la enfermedad no es posible la obtención de CPH de médula ósea.
- c) Se evita la anestesia general y las múltiples aspiraciones de médula ósea.
- d) Existe una recuperación hematológica postrasplante más rápida.

Las desventajas del uso de CPH de sangre periférica incluyen:

- a) El costo de múltiples procedimiento de aféresis.
- b) La posible necesidad de procedimientos de purgas.
- c) Requerimiento de un régimen adecuado para la movilización.
- d) Necesidad de excelente acceso venoso ⁴

Por otra parte en pacientes con síndromes mielo displásicos, como son la anemia refractaria con exceso de blastos, terapia relacionada con síndromes mielo displásicos, ó leucemia mieloblástica aguda secundaria y que no tengan donador compatible para trasplante de médula ósea alogénico, la quimioterapia intensiva seguida por trasplante de médula ósea autólogo con CPH de sangre periférica, representa una terapia alternativa.⁵

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El momento idóneo para la cosecha de CPH de sangre periférica es controversial. Mientras algunos grupos utilizan el número total de células mononucleares como indicador, otros utilizan el número de CPH, entendidas como células que expresan el antígeno de superficie CD34+.⁶

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es averiguar la correlación existente entre cuentas de células sanguíneas, incluyendo mononucleares, antes de la cosecha y la cantidad de células CD34+ finalmente obtenidas.

PACIENTES Y METODOS.

El estudio se llevo acabo de Julio de 1999 a Febrero del 2001, en el Servicio de Hematología del Centro Medico Nacional 20 de Noviembre.

Se estudiaron 31 procedimientos de cosechas obtenidas por aféresis en 15 pacientes con diferentes enfermedades neoplásicas.

Los criterios de inclusión fueron:

- o Karnosfki mayor de 60%, sin alguna patología agregada.
- o En remisión completa en casos de enfermedades hematológicas y sin datos de actividad tumoral en caso de tumores sólidos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Con alguna de las siguientes patologías: Leucemia Aguda en primera remisión completa, de 20 a 45 años de edad y sin posibilidad de trasplante alogénico.
- Leucemia Crónica Mieloide menor de 45 años, en fase crónica, durante el primer año después del diagnóstico y sin posibilidad de trasplante alogénico
- Mieloma Múltiple con edad menor de 55 años, sin posibilidad de trasplante alogénico, con un máximo de dos ciclos de quimioterapia.
- Cáncer Mamario con edad menor de 50 años, etapas I, II y III, con mastectomía radical modificada o cirugía conservadora tipo cuadrantectomía, con 10 o más ganglios positivos para metástasis, y un máximo de 4 ciclos de quimioterapia previos.
- Linfoma con edad menor de 50 años, de grado intermedio y alto de malignidad de acuerdo a la clasificación de la Working Formulation, en primera remisión completa, que lograron remisión completa con máximo 4 ciclos de quimioterapia, con riesgo intermedio-alto y alto de recaída.

Las movilizaciones fueron realizadas con ciclofosfamida 4 gr/m² una sola dosis, seguida de Mesna al 120% de la dosis de ciclofosfamida. Factor estimulante de colonias- granulocítica (Neupogen) 10 µgr/kg/día se inició al concluir la quimioterapia y se mantuvo hasta la realización de la última cosecha. Un día previo a la cosecha se colocó catéter venoso central, doble lumen tipo Mahurkar de 11.5 French (The Kendall Co, Mansfield, MA 02048,) bajo anestesia local en acceso venoso yugular externo. Las cosechas de CPH se iniciaron cuando el paciente alcanzaba una cuenta de 1000 leucocitos/µL y una cuenta de 100,000 plaquetas/µL. Las cosechas fueron realizadas diariamente, procesando un volumen total de 5 – 7 litros de sangre por leucoféresis a un flujo continuo de 50 – 60 ml/min.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Recolectando un volumen medio de 55ml, hasta alcanzar la cifra de células mononucleares de 2.5×10^8 /Kg. Del paciente, estas cosechas se realizaron utilizando una maquina Baxter CS-3000-Plus (Baxter Healthcare, Deerfield, IL) en el programa estándar 8 para recolección de células mononucleadas. El número total de glóbulos blancos, plaquetas y hematocrito precosecha y cosecha fue analizada en un contador celular Coulter (Micro Diff II) y el porcentaje de células mononucleares obtenidas en la cosecha fue determinado de forma manual en frotis de sangre periférica. El porcentaje de células CD34+ obtenidas en la precosecha y cosecha fue determinado por medio de un citometro de flujo (Becton, Dickinson) FACSCalibur, (50 μ L de suspensión fueron incubados con anticuerpo monoclonal anti-CD34+ unido a isotiocianato de fluoresceína, se utilizaron dos controles de isotipo con antigama 1 conjugada con antigama 2 utilizando ficoeritrina.)

Las variables estudiadas en cada paciente fueron:

- o Leucocitos circulantes inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha.
- o Hematocrito inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha.
- o Células mononucleadas/ μ L circulantes inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha.
- o Células mononucleadas /kilo de peso del paciente inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha.
- o Plaquetas circulantes inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha.
- o Células CD34+/ μ L circulantes inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Células CD34+/kilogramo de peso del paciente inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha.
- Peso del paciente inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha.

Estas variables fueron correlacionadas con:

- Células CD34+/ μ L de cosecha.
- Millones de células CD34+/kilo de peso del paciente.

Un programa software (Epi- Info 6) fue usado para el análisis estadístico. Las correlaciones fueron determinadas usando una regresión lineal.

RESULTADOS.

Un total de 15 pacientes (6 hombres y 9 mujeres) fueron estudiados, la edad promedio fue de 32años (rango de 12-50), 4 con Leucemia Mieloide Crónica, 6 con Cáncer de mama, 2 con Mieloma Múltiple, 1 Linfoma, 1 Leucemia Aguda No Linfoblástica y 1 Leucemia Aguda Linfoblástica.

Los límites para cada parámetro hematológico estudiado fue:

- Leucocitos ($\times 10^3/\mu$ L). 2400 - 77100
- Hematocrito (%)..... 24.2 – 40.1
- Células Mononucleares/ μ L..... 456 – 6758
- Células Mononucleares $\times 10^6/\text{Kg}$ circulante..... 0.31 – 8.78

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

• Plaquetas/ μ L.....	13,000 – 300,000
• CD34+/ μ L.....	21.8 – 739
• Millones CD34+/Kg.....	14.89 – 759.70
• Peso (Kg).....	25 – 80

Las variables con coeficientes de baja correlación(< de 0.50) con relación a millones de CD34+ por kilogramo de peso fueron:

- Leucocitos circulantes inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha (0.014.)
- Hematocrito inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha (0.29.)
- Células mononucleadas / μ L circulantes inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha (0.053.)
- Células mononucleadas/kilo de peso del paciente inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha (0.058.)
- Plaquetas circulantes inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha (0.19.)
- Peso del paciente inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha (0.12.)

Las variables con coeficientes de alta correlación(> de 0.50) con relación a millones de CD34+ por kilogramo de peso fueron:

- ✓ Células CD34+/kilogramo de peso del paciente inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha (0.62) y
- ✓ Células CD34+ / μ L circulantes inmediatamente antes de cada procedimiento de cosecha (0.70.)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Ver Tabla 1 para cifras y coeficientes de correlación.

Tabla 1. Cifras y Coeficientes de correlación.

VARIABLES PRECOSECHA	PROMEDIO	COEFICIENTE DE CORRELACION (r) con la cosecha (millones de CD34+/kg)
Leucocitos circulantes (x 10 ³ /μL)	24.706	r=0.014
Hematocrito (%)	31.81	r=0.29
CMN* /μL circulantes	2496	r=0.053
CMN* x 10 ⁶ /Kg circulantes	2.67	r=0.058
Plaquetas/μL	112.906	r=0.19
CD34+/μL	113.4	r=0.70
Millones CD34+/Kg	111.17	r=0.62
Peso (Kg)	59.45	r=0.12

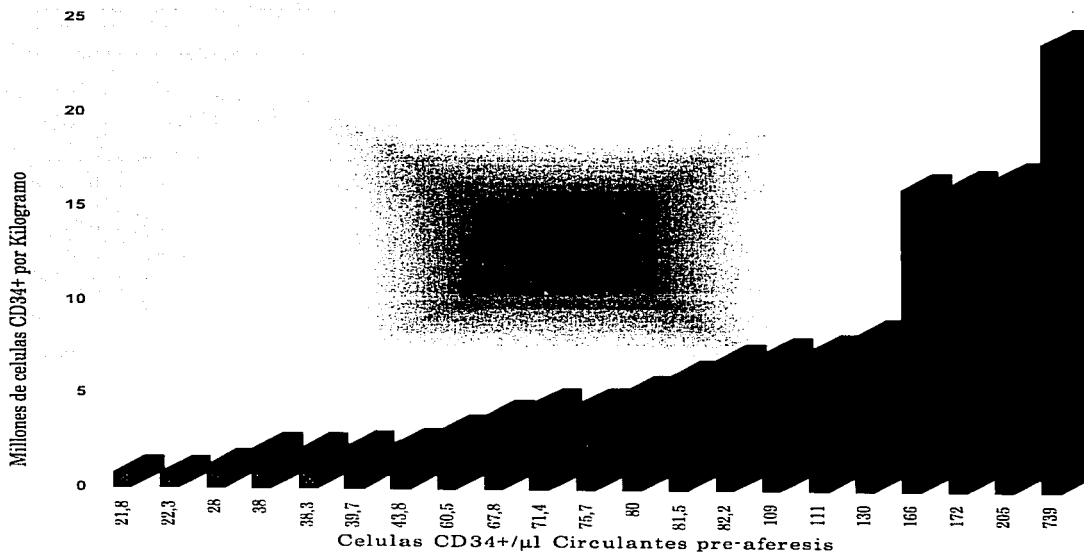
*CMN: Células Mononucleares

Se encontró una tendencia a la proporcionalidad directa entre el número de células CD34+ encontradas antes de la cosecha con el número de estas células cosechadas por kilogramo de peso del paciente. Ver Gráfica 1.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 1. Tendencia de células CD34+ pre-cosecha con células CD34+ cosechadas por Kg. De peso.

Millones de Celulas CD34+/KG Cosechadas en relación al número de CD34+/ μ l circulantes preaferesis



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIÓN.

Tal como lo reportan otros autores, el mejor parámetro para iniciar la cosecha de células progenitoras de sangre periférica por aféresis es el número de células CD34+/ μ L circulantes. Nuestra opinión es que con el fin de intentar realizar un solo procedimiento de cosecha, con los subsecuentes ahorros en equipos de aféresis y en factores estimulantes de colonias, se debe utilizar el parámetro de 50 células CD34+/ μ L.

DISCUSIÓN.

Actualmente no hay un consenso sobre el momento idóneo para iniciar la cosecha de CPH para trasplante autólogo. Algunos autores utilizan el número de células mononucleares como indicador, mientras que otros utilizan el número de células CD34+.

La recolección de CPH por leucoféresis requiere de un adecuado régimen de movilización con factores estimulantes de colonias hematopoyéticas, y uno o más procedimientos de aféresis, lo que generalmente genera costos elevados. El propósito de este estudio fue conocer el mejor indicador para el inicio de la recolección de CPH, es decir, cuando es más conveniente iniciar la cosecha mediante un solo procedimiento de aféresis y sin gastos excesivo de factores estimulantes de colonias. Con el fin de saber esto se correlacionaron parámetros hematológicos precosecha con los resultados de cada uno de los procedimientos de cosecha.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Y tal como lo reportan otros autores el numero de células mononucleares circulantes precosecha no tienen correlación con el número de células CD34+ finalmente obtenidas ($r=0.053$.) Y si tiene correlación el número de CD34+ precosecha circulantes con el número final obtenido de CD34+ ($r=0.70$.) Este hecho no es sorprendente ya que en las células mononucleares no solo van contenidas CPH, sino que también linfocitos y monocitos. En la mayoría de nuestros pacientes el objetivo de 5×10^6 /Kg de CD34+ que se requiere para un buen injerto, se alcanzo con una cuenta circulante precosecha de CD34+ de 50 células/ μ L.

En conclusión consideramos que el numero circulante de células CD34+ precosecha es un buen predictor para obtener una adecuada cosecha de CPH, y que el objetivo final de células para el trasplante debe realizarse con el número total de CD34+/Kg. Ya que este método reducirá el número de procedimientos de aféresis, y consecuentemente los días de movilización, lo que redundara en una disminución de los costos del procedimiento.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

REFERENCIAS.

1. Clifford P, Clift RA, Duff JK. Nitrogen – mustard therapy combined with autologous marrow infusion. *Lancet* 1961;1:687.
2. Kurnick NB. Autologous and isologous bone marrow storage and infusion in the treatment of myelosuppression. *Transfusion* 1962;2:17
3. Demirer T. Peterson FB. Et al. Autologous transplantation with peripheral blood stem cells collected after granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myelogenous leukaemia. *Bone Marrow Transplantation* 18(1): 29-34, 1996
4. Champlin RE. Peripheral blood progenitors cells: a replacement for marrow transplantation? *Seminars in Oncology*. 23 (2 Suppl 4): 15-21, 1996 Apr.
5. Theo De Witte. Et al. Autologous Bone Marrow Transplantation for patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS) or Acute Myeloid Leukaemia followings MDS. *Blood*, Vol. 90, No 10 (November 15), 1997: pp 3853-3857.
6. Miguel Angel Díaz. Et al. Large- volume leukapheresis in pediatric patients: preapheresis peripheral blood CD34+ celi count predicts progenitor cell yield. *Haematologica* 1999 84: 32- 35.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN