



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA**

**Aféresis de Alto Volumen en el Transplante  
Autólogo de Progenitores Hematopoyéticos.  
Estudio de los Factores que Influyen en su  
Eficacia**

**D. Raúl Pérez López  
2015**



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**TESIS DOCTORAL**

**AFÉRESIS DE ALTO VOLUMEN EN EL TRASPLANTE  
AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS.  
ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN SU  
EFICACIA.**

Doctorando: Raúl Pérez López.

Directores:

Dra. María Juliana Majado Martínez.

Dra. Ana María García Hernández.

Dr. José María Moraleda Jiménez.



**A mis padres**



Esta tesis ha podido ser realizada tras un trabajo duro y durante muchos años de una gran cantidad de personas por lo que los agradecimientos son, en este caso, a mucha gente.

En primer lugar, agradecer a mi jefe, el Dr. José María Moraleda por haber confiado en mi para formar parte de su equipo y hacerme sentir muy cómodo y se importante.

Cuando se empezó a recoger los datos de la tesis, que data de 1996 muchas personas, que ya no están en el servicio trabajaron mucho. Así, a nivel médico, el antiguo jefe de servicio, el Dr. Candel y el posterior, el Dr. Morales, con su equipo: la Dra. Sanz, Dr. Moreno, Dr. García, Dra. Martínez y el Dr. Tamayo, y de los que aún están en el servicio como la Dra. González con los que coincidí durante mi época de residencia de que fueron los que me introdujeron en el mundo de la Hematología.

Pero no sólo aprendí de hematólogos, sino que muchos técnicos, enfermeros, auxiliares,..., también han hecho posible la finalización e esta tesis. Como Vicky y Antonia, antiguas técnicos de Criopreservación, o los enfermeros de Banco de Sangre.

Agradecer en mis años fuera de la Arrixaca a muchos compañeros que me han facilitado mi trabajo en la tesis, permitiéndome “pequeñas escapadas” en horas no muy comunes. Gracias a mis compañeros de Lorca, María José, Adela, Antonio y Begoña.

En cuanto al equipo actual, que muchos de ellos, los conocí en mi antigua estancia aquí, agradecer a mis compañeros Miguel como responsable de las aféresis su ayuda y enseñanzas en este tema, y también al resto del equipo.

También a Pilar (TEL) y Mari Carmen, enfermera de Banco de Sangre por su aportación a que los resultados de esta tesis fuesen tan minuciosos.

Ahora, entro en la parte personal, donde se mezcla trabajo y amistad. No puedo dejar de agradecer a mis grandes amigos con los que tengo la suerte de trabajar: Eduardo (por supuesto), Faus, Valentín y Merce que han hecho que mi vuelta aquí haya sido perfecta y que me han permitido algunas “escapadas” para poder finalizar la tesis.

Y claro, en terreno personal 100%, a toda mi familia por haberme apoyado, perdonarme no estar todo el tiempo con ellos. Gracias a mi padre por haberme inculcado la importancia de trabajar poco a poco pero sin descanso para obtener el éxito final. A mi madre, que seguro que este día sería la persona más feliz del mundo. A mis hermanos (Paco, Ángel, Toñi y Ana, sobrinos Adrián y losu (perdón Adrián por no haberte visitado más estos últimos meses) y tíos. A mis íntimos amigos Susana y Juanje a los que, aunque no los haya visto todo lo que quisiera, se que siempre están ahí.

Y por último, hay dos personas especiales en esta tesis a los que estoy y estaré infinitamente agradecido.

Primero a Ana, que por ayudarme a que esta tesis parezca realmente lo que es ha estado horas y horas delante del ordenador perdiendo muchas veces horas de disfrutar de su familia (gracias por todo).

Y a Maruja, que la verdad es que por mucho que se lo agradezca nunca será suficiente. Esta tesis en, en realidad, diez años de su constante trabajo y que hace un tiempo me lo “regaló” para que pudiese ser doctor. Gracias Maruja porque esta tesis eres tú.

## **ÍNDICE**





<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS</b>	Pag. 15
<b>INTRODUCCIÓN</b>	Pag. 19
<b>1. BREVE RESEÑA HISTÓRICA DEL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS</b>	Pag. 21
<b>2. SITUACIÓN ACTUAL DEL TRASPLANTE</b>	Pág. 25
<b>2.1 Objetivos e indicaciones del trasplante de progenitores hematopoyéticos</b>	Pág. 27
<b>2.2 Tipos de TPH</b>	Pág. 29
2.2.1 Según el tipo de donante	Pág. 29
2.2.2 Según la procedencia de los PH	Pág. 29
2.2.3 Según el acondicionamiento	Pág. 29
<b>3. CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS</b>	Pág. 31
<b>4. BIOLOGÍA DE LA MOVILIZACIÓN DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS</b>	Pág. 32
<b>4.1 Movilización inducida por citocinas</b>	Pág. 33
4.1.1 GM-CSF	Pág. 38
4.1.2 G-CSF	Pág. 38
4.1.3 GM-CSF más G-CSF	Pág. 39
4.1.4 Pegilgrastim	Pág. 40
4.1.5 Lenograstim	Pág. 40
4.1.6 G-CSF en combinación con quimioterapia	Pág. 41
4.1.7 Nuevos agentes	Pág. 42
4.1.7.1 Plerixafor	Pág. 42
<b>5. PROCESO DE AFÉRESIS Y RECOGIDA DE CD34<sup>+</sup></b>	Pág. 44
<b>6. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL ÉXITO DE LA RECOLECCIÓN DE LOS PHSP</b>	Pág. 46
<b>7. AFÉRESIS DE ALTAS VOLEMIAS</b>	Pág. 49
<b>8. FASE POST-INFUSIÓN PHSP</b>	Pág. 51
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	Pag. 53
<b>1. HIPÓTESIS DE TRABAJO</b>	Pág. 55
<b>2. OBJETIVOS</b>	Pág. 56
2.1 Principal	Pág. 56
2.2 Secundarios	Pág. 56
<b>PACIENTES Y MÉTODOS</b>	Pág. 57
<b>1. RECOGIDA DE DATOS</b>	Pág. 59
<b>2. PACIENTES</b>	Pág. 60
2.1 Pre-aféresis	Pág. 60
2.2 Post-trasplante	Pág. 60
<b>3. MOVILIZACIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS</b>	Pág. 62
<b>4. RECOLECCIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (AFÉRESIS)</b>	Pág. 63
4.1 Acceso venoso	Pág. 63
4.2 Máquina de aféresis	Pág. 65
4.3 Procedimiento de aféresis	Pág. 67

<b>5. CONTROLES ANALÍTICOS</b>	Pág. 69
5.1 <b>Controles al paciente</b>	Pág. 69
5.2 <b>Controles al producto de aféresis</b>	Pág. 70
5.3 <b>Procedimientos analíticos</b>	Pág. 70
5.3.1 Hematimetría	Pág. 70
5.3.2 Cuantificación y caracterización fenotípica de los progenitores hematopoyéticos	Pág. 71
5.3.4 Cultivos de clonogénicos	Pág. 73
<b>6. EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS</b>	Pág. 76
6.1 <b>Células progenitoras pre-aféresis en el paciente</b>	Pág. 76
6.2 <b>Células progenitoras recogidas</b>	Pág. 77
6.3 <b>Recuperación celular en la aféresis</b>	Pág. 77
6.4 <b>Cálculo de las células infundidas</b>	Pág. 78
<b>7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	Pág. 79
7.1 <b>Variables</b>	Pág. 79
<b>RESULTADOS</b>	Pág. 81
<b>1. PACIENTES</b>	Pág. 83
1.1 <b>Grupo total</b>	Pág. 83
1.1.1 Datos demográficos	Pág. 83
1.1.2 Parámetros hematimétricos	Pág. 84
1.1.3 Progenitores hematopoyéticos	Pág. 85
1.2 <b>Grupos diagnósticos</b>	Pág. 85
1.2.1 Datos demográficos	Pág. 86
1.2.2 Parámetros hematimétricos	Pág. 86
1.2.3 Progenitores hematopoyéticos	Pág. 88
1.2.3.1 Correlaciones entre los progenitores hematopoyéticos	Pág. 88
1.2.4 Líneas de tratamientos recibidos	Pág. 91
1.2.5 Situación de la enfermedad de base previa a la aféresis	Pág. 91
1.2.6 Movilización realizada para las aféresis	Pág. 92
1.2.7 Pacientes con más de una movilización	Pág. 93
<b>2. AFÉRESIS</b>	Pág. 95
2.1 <b>Grupo total de pacientes</b>	Pág. 98
2.1.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales circulantes	Pág. 98
2.1.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales obtenidas en las aféresis	Pág. 99
2.1.3 Repercusión del esquema de movilización en la eficacia de las aféresis	Pág. 101
2.1.4 Repercusión de la situación clínica de la enfermedad en la eficacia de la aféresis	Pág. 104
2.1.5 Repercusión de las líneas de tratamiento en la eficacia de la aféresis	Pág. 108
2.2 <b>Mieloma múltiple</b>	Pág. 113
2.2.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales circulantes	Pág. 113

2.2.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales obtenidas en las aféresis	Pág. 113
2.2.3 Datos de las CD34 <sup>+</sup> /kg circulantes y en cada una de las bolsas de aféresis	Pág. 115
2.2.4 Repercusión del esquema de movilización en la eficacia de las aféresis	Pág. 115
2.2.5 Repercusión de la situación clínica de la enfermedad en la eficacia de la aféresis	Pág. 119
2.2.6 Repercusión de las líneas de tratamiento en la eficacia de la aféresis	Pág. 123
<b>2.3 Linfoma no Hodgkin</b>	Pág. 127
2.3.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales circulantes	Pág. 127
2.3.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales obtenidas en las aféresis	Pág. 128
2.3.3 Datos de las CD34 <sup>+</sup> /kg circulantes y en cada una de las bolsas de aféresis	Pág. 129
2.3.4 Repercusión del esquema de movilización en la eficacia de las aféresis	Pág. 130
2.3.5 Repercusión de la situación clínica de la enfermedad en la eficacia de la aféresis	Pág. 133
2.3.6 Repercusión de las líneas de tratamiento en la eficacia de la aféresis	Pág. 137
<b>2.4 Enfermedad de Hodgkin</b>	Pág. 140
2.4.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales circulantes	Pág. 141
2.4.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales obtenidas en las aféresis	Pág. 141
2.4.3 Datos de las CD34 <sup>+</sup> /kg circulantes y en cada una de las bolsas de aféresis	Pág. 143
2.4.4 Repercusión del esquema de movilización en la eficacia de las aféresis	Pág. 143
2.4.5 Repercusión de la situación clínica de la enfermedad en la eficacia de la aféresis	Pág. 147
2.4.6 Repercusión de las líneas de tratamiento en la eficacia de la aféresis	Pág. 151
<b>2.5 Leucemia linfática crónica</b>	Pág. 154
2.5.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales circulantes	Pág. 154
2.5.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales obtenidas en las aféresis	Pág. 155
2.5.3 Datos de las CD34 <sup>+</sup> /kg circulantes y en cada una de las bolsas de aféresis	Pág. 157
2.5.4 Repercusión de la situación clínica de la enfermedad en la eficacia de la aféresis	Pág. 157
2.5.5 Repercusión de las líneas de tratamiento en la eficacia de la aféresis	Pág. 161

<b>2.6 Leucemia mieloblástica aguda</b>	Pág. 165
2.6.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales circulantes	Pág. 165
2.6.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> , CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME totales obtenidas en las aféresis	Pág. 165
2.6.3 Datos de las CD34 <sup>+</sup> /kg circulantes y en cada una de las bolsas de aféresis	Pág. 167
2.6.4 Repercusión del esquema de movilización en la eficacia de las aféresis	Pág. 167
2.6.5 Repercusión de la situación clínica de la enfermedad en la eficacia de la aféresis	Pág. 171
2.6.6 Repercusión de las líneas de tratamiento en la eficacia de la aféresis	Pág. 171
<b>2.7 Leucemia linfoblástica aguda</b>	Pág. 174
2.7.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> y CFU-GM totales circulantes	Pág. 175
2.7.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> y CFU-GM totales obtenidas en las aféresis	Pág. 175
2.7.3 Datos de las CD34 <sup>+</sup> /kg circulantes y en cada una de las bolsas de aféresis	Pág. 176
2.7.4 Repercusión del esquema de movilización en la eficacia de las aféresis	Pág. 177
<b>2.8 Cáncer de mama</b>	Pág. 180
2.8.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> y CFU-GM totales circulantes	Pág. 180
2.8.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> y CFU-GM totales obtenidas en las aféresis	Pág. 181
2.8.3 Datos de las CD34 <sup>+</sup> /kg circulantes y en cada una de las bolsas de aféresis	Pág. 182
2.8.4 Repercusión del esquema de movilización en la eficacia de la aféresis	Pág. 183
2.8.5 Repercusión de la situación clínica de la enfermedad en la eficacia de la aféresis	Pág. 186
2.8.6 Repercusión de las líneas de tratamiento en la eficacia de la aféresis	Pág. 189
<b>2.9 Leucemia mieloide crónica</b>	Pág. 192
2.9.1 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> y CFU-GM totales circulantes	Pág. 193
2.9.2 Células CMN, CD34 <sup>+</sup> y CFU-GM totales obtenidas en las aféresis	Pág. 193
2.9.3 Datos de las CD34 <sup>+</sup> /kg circulantes y en cada una de las bolsas de aféresis	Pág. 195
2.9.4 Repercusión del esquema de movilización y situación clínica de la enfermedad en la eficacia de la aféresis	Pág. 195
2.9.5 Repercusión de las líneas de tratamiento en la eficacia de la aféresis	Pág. 195
<b>2.10 Otros diagnósticos</b>	Pág. 198
<b>2.11 Estudio comparativo del rendimiento de la aféresis entre los diferentes diagnósticos</b>	Pág. 199
2.11.1 Recuperación de progenitores hematopoyéticos en la	Pág. 200

primera mitad de la aféresis	
2.11.2 Recuperación de progenitores hematopoyéticos en la segunda mitad de la aféresis	Pág. 201
<b>2.12 Repercusión de la edad y el sexo en el rendimiento de la aféresis</b>	Pág. 202
2.12.1 Rendimiento de la aféresis en función a la edad de los pacientes	Pág. 202
2.12.1.1 Datos de células totales circulantes	Pág. 203
2.12.2 Hombres <i>versus</i> mujeres	Pág. 205
<b>2.13 Repercusión del recuento de células CD34<sup>+</sup> y de plaquetas en el rendimiento de las aféresis</b>	Pág. 206
2.13.1 Repercusión del recuento de células CD34 <sup>+</sup> en el rendimiento de las aféresis	Pág. 206
2.13.1.1 Células totales circulante	Pág. 206
2.13.1.2 Células obtenidas en las aféresis	Pág. 207
2.13.1.3 Datos de CD34 <sup>+</sup> /kg en las bolsas de aféresis	Pág. 209
2.13.2 Repercusión del recuento de plaquetas en el rendimiento de las aféresis	Pág. 210
2.13.2.1 Datos de células totales circulantes	Pág. 210
2.13.2.2 Datos de células totales obtenidas en las aféresis	Pág. 211
2.13.2.3 Datos de CD34 <sup>+</sup> /kg en las bolsas de aféresis	Pág. 213
<b>2.14 Correlación de las células circulantes con las obtenidas en el producto de aféresis</b>	Pág. 213
2.14.1 Correlación de datos pre-aféresis con la recogida en la primera y segunda bolsa	Pág. 213
2.14.2 Correlacion de los progenitores hematopoyéticos entre sí en la primera bolsa de aféresis	Pág. 215
2.14.3 Correlacion de los progenitores hematopoyéticos entre sí en la segunda bolsa de aféresis	Pág. 216
<b>3. TRASPLANTES REALIZADOS</b>	Pág. 219
<b>3.1 Pacientes trasplantados</b>	Pág. 219
<b>3.2 Resultados</b>	Pág. 220
3.2.1 Buenos movilizadores <i>versus</i> malos movilizadores	Pág. 220
3.2.2 Buenos/malos movilizadores <i>versus</i> muy malos movilizadores	Pág. 223
3.2.3 Malos movilizadores <i>versus</i> muy malos movilizadores	Pág. 225
<b>DISCUSIÓN</b>	Pág. 227
<b>1. OBJETIVO PRINCIPAL: EFICACIA DE LAS AFÉRESIS DE ALTO VOLUMEN PARA LA OBTENCIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN FUNCIÓN DE DIFERENTES FACTORES:</b>	Pág. 231
1.1 En función de la patología de base	Pág. 231
1.2 Eficacia en función de las líneas de tratamiento previas	Pág. 232
1.3 Eficacia en función de la respuesta de la enfermedad de base en el momento de la aféresis	Pág. 233
1.4 Eficacia en función del esquema de movilización utilizado	Pág. 235

1.5 Impacto de las aféresis de alto volumen para la obtención de PH en función del recuento de CD34 <sup>+</sup> y plaquetas pre-aféresis en sangre periférica	Pág. 236
1.6 Eficacia de las aféresis de alto volumen para la obtención de PH en función al sexo y edad	Pág. 238
1.7 Correlaciones PH basales, primera y segunda bolsa	Pág. 241
2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:	Pág. 242
2.1 Efecto movilizador de las aféresis	Pág. 242
2.2 Cinética del injerto en los buenos y malos movilizadores	Pág. 243
2.3 Algoritmo para discriminar pacientes a procesar aféresis de altos volúmenes de los que no lo requieren	Pág. 244
<b>CONCLUSIONES</b>	Pág. 247
<b>REFERENCIAS</b>	Pág. 251
<b>ANEXO. DIFUSIÓN DE TRABAJOS CIENTÍFICOS RELACIONADOS.</b>	Pág. 267

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS





## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>1B</b>	Primera bolsa	<b>DMSO</b>	Dimetil sulfóxido
<b>2B</b>	Segunda bolsa	<b>EAI</b>	Enfermedades autoinmunes
<b>7 AAD</b>	7 -Actinomicina D	<b>EEM</b>	Error estándar de la media
<b>AAG</b>	Anemia aplásica grave	<b>EH</b>	Enfermedad de Hodgkin
<b>AAV</b>	Aféresis de altas volemias	<b>EMR</b>	Enfermedad mínima residual
<b>AES</b>	Efectos adversos graves	<b>EPO</b>	Eritropoyetina
<b>Alo-TPH</b>	Trasplante alogénico de médula ósea	<b>G-CSF</b>	Granulocyte colony-stimulating factor
<b>BFU-E</b>	Colonias eritroides	<b>G-CSF</b>	Factor estimulante de colonias granulocíticas
<b>BM</b>	Buenos movilizadores	<b>GM- CSF</b>	Factor estimulante de colonias granulo-macrofágicas.
<b>BMM</b>	Buenos y malos movilizadores	<b>GM-CS</b>	Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor
<b>c.s.</b>	Células sembradas	<b>Hb</b>	Hemoglobina
<b>ca</b>	Cáncer	<b>HLA</b>	Antígenos de leucocitos humanos
<b>CD14-APC</b>	Alofococianina	<b>i.c.</b>	Índice de correlación
<b>CD34-PE</b>	Ficoeritrina	<b>ICT</b>	Irradiación corporal total
<b>CD45-FITC</b>	Fluoresceína	<b>Kg</b>	Kilogramos
<b>cels</b>	Células	<b>L</b>	Litros
<b>CFU-GM</b>	Progenitores granulo-macrofágicos	<b>LAM</b>	Leucemia mieloblástica aguda
<b>CFU-</b>	Colonias mixtas	<b>LF</b>	Leucoaféresis
<b>GMME</b>		<b>LLA</b>	Leucemia linfoblástica aguda
<b>CH</b>	Concentrado de hematíes	<b>LLC</b>	Leucemia linfática crónica
<b>CMN</b>	Células mononucleares (monocitos más linfocitos=)	<b>LMC</b>	Leucemia mieloide crónica
<b>CPH</b>	Células progenitoras hematopoyéticas	<b>LMMJ</b>	Leucemia mielomonocítica juvenil
<b>Cy</b>	Ciclofosfamida		
<b>Cy-G</b>	Ciclofosfamida más G-CSF		
<b>dL</b>	Decilitros		

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>LNH</b>	Linfoma no Hodgkin	<b>RDT</b>	radioterapia
<b>M</b>	Mujer	<b>RP</b>	Respuesta parcial
<b>MAMA</b>	Cáncer de mama	<b>SCU</b>	Sangre de cordón umbilical
<b>ml</b>	Miliilitros	<b>SC</b>	Stem cells
<b>MM</b>	Mieloma múltiple	<b>SCU</b>	Sangre de cordón umbilical
<b>MMM</b>	Muy malos movilizadores	<b>SMD</b>	Síndrome mielodisplásico
<b>MMo</b>	Malos movilizadores	<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>MO</b>	Médula ósea	<b>sp</b>	Sangre periférica
<b>ND</b>	No datos	<b>TAPH</b>	Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos
<b>NS</b>	No significativo	<b>TASPE</b>	Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica
<b>P</b>	Peso	<b>TMO</b>	Trasplante de médula ósea
<b>PH</b>	Progenitores hematopoyéticos	<b>TPH</b>	Trasplante de progenitores hematopoyéticos
<b>PHSP</b>	Progenitores hematopoyéticos de sangre periférica	<b>UP</b>	Unidades de plaquetas
<b>PNET</b>	Tumores neuroectodérmicos primitivos	<b>VS</b>	Volumen sanguíneo
<b>PROG.</b>	Progresión	<b>vs.</b>	Versus
<b>QMT</b>	Quimioterapia	<b>μL</b>	Microlitro
<b>QMT-G</b>	Quimioterapia más G-CSF		
<b>RC</b>	Respuesta completa		

## INTRODUCCIÓN



# **1. BREVE RESEÑA HISTÓRICA DEL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS**

La historia del trasplante de médula ósea (TMO) se inicia con el concepto propuesto por Artur Pappenheim, en el siglo XIX, de la existencia de una célula precursora a partir de la cual se originan todas las líneas celulares hematopoyéticas. Los experimentos en los que se fundamentó el TMO se llevaron a cabo en modelos murinos a partir de la segunda mitad del siglo XX<sup>1</sup>. Sin embargo, Brown en 1891 ya utilizaba la médula ósea (MO) por vía oral como tratamiento para trastornos hematológicos<sup>2</sup>. En 1939, Rasjek y Osgood administraron a sus pacientes MO intramedular e intravenosa para el tratamiento de leucemias y aplasia medular, y se produjo el primer intento de recuperar la hematopoyesis en un paciente con anemia aplásica infundiéndole transfusiones y pequeñas cantidades de MO de su hermano, sin ningún tratamiento de acondicionamiento previo<sup>3</sup>.

Tras la Segunda Guerra Mundial, al identificarse la aplasia medular por irradiación como causa de muerte en la población japonesa expuesta a las explosiones de las bombas atómicas, se despertó en la comunidad científica un notable interés acerca de los efectos de la radiación ionizante sobre los organismos vivos<sup>4</sup>.

En 1949 Jacobson y colaboradores demostraron que los ratones irradiados letalmente, podían recuperar su hematopoyesis normal si se protegía el bazo de las radiaciones, lo que demostraba el papel de este órgano como parte del sistema hematopoyético<sup>4</sup>. En 1951, Lorenz y otros describieron que con la infusión de células de la MO de un ratón sano, se podían rescatar los ratones sometidos a irradiación letal<sup>5,6,7</sup>, lo que parecía demostrar que la protección a las radiaciones se debía a factores celulares.

Al desconocerse la importancia de los antígenos de histocompatibilidad en el contexto del TMO, los intentos iniciales de aplicar esta terapia en pacientes con enfermedades hematológicas graves fueron un fracaso.

En 1954<sup>8</sup>, Miescher y Fauconnet comunicaron la existencia de anticuerpos inducidos por transfusiones y embarazos que reaccionaban con los antígenos presentes en los leucocitos humanos. Más tarde, Dausset y Van Rood en 1958,

describieron a partir de estos anticuerpos los grupos de antígenos de leucocitos humanos (HLA), que han cambiado la historia del trasplante<sup>9,10</sup>.

Mientras estos descubrimientos veían la luz, E. Donnall Thomas realizaba los primeros TMO en humanos. En 1957<sup>11</sup>, trasplantó a seis pacientes con diversas patologías con pobres resultados, ya que sólo en dos casos se logró un injerto transitorio. Sin embargo esta primera experiencia sirvió para demostrar que volúmenes relativamente grandes de MO podían ser administrados por vía intravenosa sin toxicidad.

A lo largo de esta década de los 50, se comunicaron en torno a doscientos trasplantes de médula ósea alogénicos realizados sin conseguir injerto hematopoyético a largo plazo.

En contraste, sí se obtuvieron injertos satisfactorios con el trasplante de gemelos idénticos: en 1959 dos pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA) avanzada recibieron un TMO de sus gemelos idénticos tras un acondicionamiento basado en dosis letales de irradiación corporal total (ICT)<sup>12</sup>. Los pacientes recuperaron la hematopoyesis, aunque fallecieron por progresión de enfermedad<sup>13</sup>.

Mathé, en 1959<sup>14</sup>, logró llevar a cabo el primer trasplante alogénico duradero; pero el paciente falleció por lo que después se definiría como enfermedad de injerto contra huésped (EICH) crónica.

Una vez descubierto y reconocido el complejo mayor de histocompatibilidad en humanos (HLA) descrito por Dausset y Payne<sup>15</sup> fue posible seleccionar donantes compatibles que proporcionaran un injerto duradero sin el riesgo de EICH letal.

Esto permitió que se llevaran a cabo con éxito los primeros trasplantes con médula ósea alogénica (alo TPH) de un donante HLA compatible. Así en 1968 el grupo de Minneapolis y el grupo de Milwaukee, de forma simultánea los realizaron en niños con inmunodeficiencia grave<sup>16</sup>. En marzo de 1969, el grupo de Seattle liderado por Don Thomas llevó a cabo con éxito el primer trasplante HLA compatible en un paciente leucémico y en 1972 este mismo grupo publicó los primeros cuatro casos con anemia aplásica grave (AAG) tratados con trasplante de MO de donante HLA idéntico, estableciendo la prueba de concepto de la capacidad curativa del alo-TPH en estas enfermedades en fase avanzada<sup>17,18</sup>.

La posibilidad de utilizar la MO del propio paciente como fuente de PH, se vio

facilitada con la descripción de métodos de criopreservación, que permiten mantener tejido hematopoyético medular viable durante largos periodos de tiempo<sup>19,20</sup>. Kurnick et ál<sup>21</sup> y McGovern et ál<sup>22</sup> descubrieron las primeras experiencias de soporte hematopoyético con MO autóloga tras una irradiación corporal total. Estos implantes parecían proteger contra la toxicidad medular, pero su beneficio clínico era incierto, debido a la alta tasa de recaídas por ineffectividad en la erradicación de la enfermedad de base. El trasplante autólogo fue utilizado con éxito primero en pacientes con linfomas en los años 70, y su uso se amplió en todo el mundo en la década de los 80<sup>23</sup>. Otro gran avance fue la introducción, en 1981 de la sangre periférica (SP) como fuente de células progenitoras hematopoyéticas (CPH)<sup>24</sup>. Gracias al desarrollo de separadores celulares capaces de recolectar grandes cantidades de células de sangre periférica<sup>25</sup> se hicieron viables estas prácticas, que se iniciaron en los hospitales Hammersmith Hospital de Londres<sup>26,27</sup> y en el Johns Hopkins Hospital de Baltimore<sup>28</sup>, estableciéndose en la práctica diaria hacia 1986<sup>25,29-32</sup>.

En los años 60 Goodman y Hodgson demostraron la existencia de CPH en la sangre de los ratones<sup>33</sup> que podían recolectarse con éxito. A partir de estos hallazgos comenzó a desarrollarse la tecnología de la citocentrifugación para concentrar CPH obtenidas a partir de sangre periférica y se realizaron los primeros trasplantes de sangre periférica. Esta fuente de obtención CPH era una alternativa para los pacientes en los que no se podían obtener células progenitoras medulares, debido a su enfermedad de base o a irradiación previa. El descubrimiento de que los factores de crecimiento hematopoyéticos causaban una liberación transitoria de CPH en la SP, un fenómeno denominado movilización, así como sus posibles aplicaciones para recolectar grandes cantidades de células mediante aféresis, fue descrito por primera vez por Richman et ál en 1976<sup>34</sup>.

En los años siguientes se desarrollaron los procedimientos de movilización que se emplean hoy en día, basados en el efecto descrito por estos autores y en la utilización de factores estimuladores de colonias hematopoyéticas<sup>35-37</sup>.

Por tanto, en medio siglo, se había recorrido un gran camino en el conocimiento de la biología celular de la hematopoyesis hasta su aplicación al tratamiento de enfermedades mediante el TPH. Así, la presencia de una célula troncal



común circulante en sangre periférica fue intuida en 1909 por A. Maximow que describió su migración a través de los tejidos hasta asentarse en un microambiente adecuado<sup>38,39</sup>. Sesenta años después, Goodman y Hodgson acuñan el término “Blood stem cell” en base a evidencias experimentales<sup>33</sup>, y el grupo de E.D.Thomas confirma su aplicabilidad realizando los primeros trasplantes autólogos de sangre periférica en un modelo canino<sup>40</sup>.

Otro avance técnico muy importante fue la introducción de la citometría de flujo, que permite cuantificar los progenitores hematopoyéticos de forma rápida y fiable<sup>41</sup>. Gracias a ella, el TPH de sangre periférica se puede concebir hoy como un tratamiento preciso, susceptible de dosificación celular.

La introducción en la práctica clínica estos avances, puso de manifiesto las ventajas del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) de sangre periférica sobre el de medula ósea, fundamentalmente la reducción del tiempo de aplasia y la posibilidad de recoger el producto celular de forma ambulatoria y sin necesidad de anestesia<sup>42</sup>. Como consecuencia de ello, la sangre periférica se convierte paulatinamente durante la década de los 90 en la fuente preferida de obtención PH para trasplante autólogo en la gran mayoría de los centros<sup>43,44</sup>.

En el caso del trasplante alogénico, el uso de la sangre periférica como fuente de PH sigue también una evolución creciente, aunque limitada por la posibilidad de una mayor incidencia de enfermedad injerto contra huésped crónica con respecto a la médula<sup>45</sup>.

## **2. SITUACIÓN ACTUAL DEL TRASPLANTE**

Los registros de trasplante nacionales e internacionales (REDMO, EBMT) muestran cómo en los últimos años han aumentado progresivamente el número de procedimientos realizados.

En el contexto del trasplante alogénico el incremento de actividad se debe a la aparición de nuevas modalidades de trasplante, tanto los trasplantes con acondicionamiento de intensidad reducida, como nuevas fuentes de progenitores (doble cordón, haploidéntico,) que han permitido el acceso a esta terapia a pacientes con comorbilidades o sin un donante HLA idéntico. No obstante, el trasplante autólogo sigue siendo una herramienta fundamental dentro del plan terapéutico de numerosas patologías hematológicas y no hematológicas y el número de TASPE realizados también aumenta progresivamente año tras año.

En España, durante el año 2013 se realizaron 2945 trasplantes de progenitores hematopoyéticos de los que 1769 fueron autólogos y 1176 alogénicos y de estos últimos 477 de donante emparentado y 699 de donante no emparentado (memoria REDMO 2013).

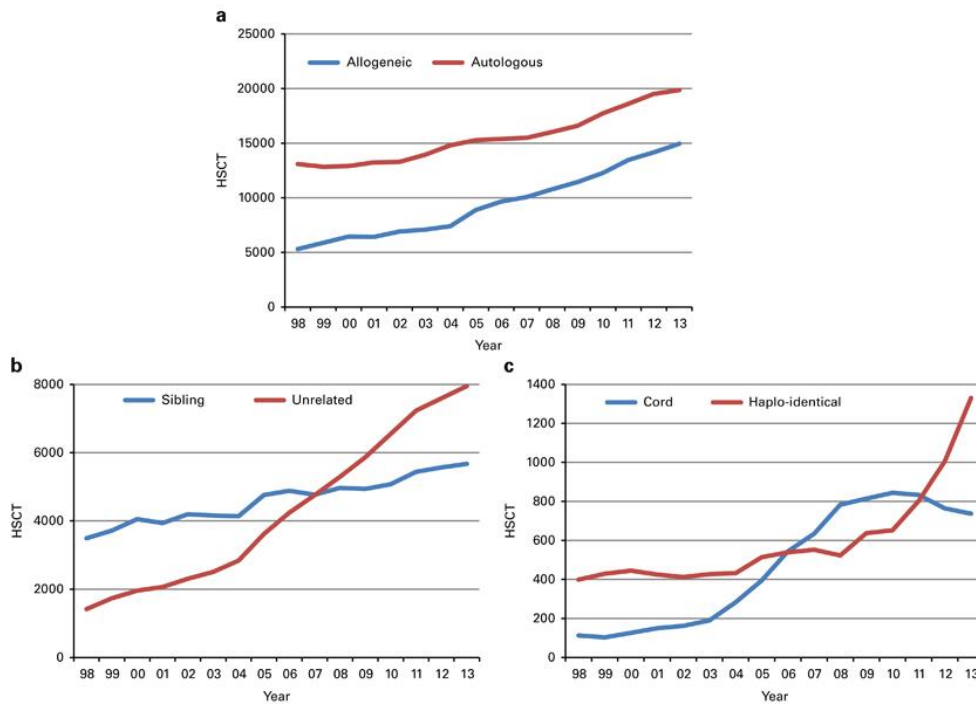


Figura 1: Evolución del número de trasplantes de MO en Europa hasta 2013<sup>46</sup>.

Según EBMT<sup>46</sup> en Europa en 2013 se realizaron un total de 33678 trasplantes, de ellos 19513 fueron autólogos, cuya distribución se muestran en las figuras 1 y 2.

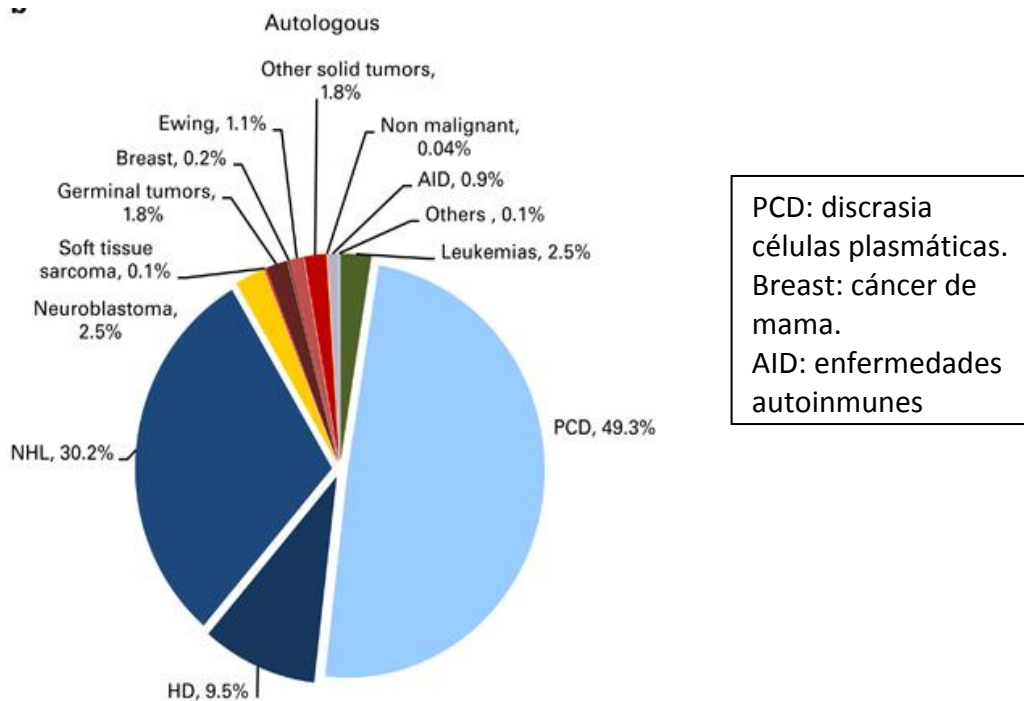


Figura 2: Porcentaje de TASPEs en Europa en 2013<sup>46</sup>

## 2.1 OBJETIVOS E INDICACIONES DEL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TPH)

El TPH tiene dos objetivos principales<sup>47-50</sup>:

- La sustitución de la hematopoyesis y la inmunidad del paciente (por ser total o parcialmente defectuosa, insuficiente o neoplásica), por una normal procedente de un donante sano (**TPH alogénico**). En este tipo de trasplante, se aporta además la actividad antitumoral de la celularidad inmunocompetente del injerto; efecto conocido como reacción del injerto contra tumor o injerto contra leucemia.
- Permitir la aplicación de tratamientos antineoplásicos e inmunosupresores en dosis altas (mieloablativas) que permiten la erradicación de poblaciones tumorales clonales y/o la recapitulación del sistema inmunológico. La infusión de PH de un donante sano (**TPH alogénico**), o del propio paciente (**TPH autólogo**), rescata la hematopoyesis y la inmunidad tras la aplicación de estos tratamientos.

Las indicaciones del trasplante se indican en la tabla 1.

**Tabla 1: Indicaciones más frecuentes del trasplante hematopoyético.**

<u>LAM</u>	TPH alogénico en 1ª o sucesivas remisiones <sup>50-53</sup> .
<u>SMD</u>	TPH alogénico en pacientes AR <sup>50</sup> .
<u>LAL</u>	TPH alogénico en pacientes AR en 2a RC. TPH autólogo en AR con EMR negativa <sup>55</sup>
<u>LMC</u>	Indicación reducida por uso inhibidores tirosínkinasa.
<u>LNH AGRESIVOS O DE ALTO GRADO</u>	IPI desfavorable TASPE tras 1a línea <sup>59</sup> o 2 remisiones <sup>57,58</sup> .
<u>LNH DE BAJO GRADO</u>	TPH autólogo en pacientes en recaída <sup>59</sup> .
<u>ENFERMEDAD DE HODGKIN</u>	TPH autólogo en recaída sensibles o enfermedad refractaria primaria <sup>60</sup> .
<u>MIELOMA MÚLTIPLE</u>	TPH autólogo en 1a línea y tratamiento de rescate <sup>61</sup> para prolongar la supervivencia <sup>62</sup> .
<u>LMMJ</u>	TPH alogénico <sup>51</sup> .
<u>ENFERMEDADES NO TUMORALES<sup>51</sup>:</u> - Anemia aplásica. - Hemoglobinuria paroxística nocturna. - Anemia de Fanconi. - Anemia Blackfan-Diamond. - Talasemia mayor. - Anemia falciforme. - Inmunodeficiencia combinada severa. - Síndrome Wiskott-Aldrich. - Errores congénitos del metabolismo	TPH alogénico.
<u>TUMORES SÓLIDOS<sup>51</sup>:</u> - Sarcoma/PNET - Tumores SNC (incluyendo Neuroblastoma) - Tumores células germinales. - Tumores epiteliales (Ca mama, ovario y pulmón).	Aumento TPH autólogo en Sarcoma/PNET; Tumores SNC (incluyendo Neuroblastoma); Tumores células germinales.  Descenso TPH autólogo en Tumores epiteliales.
<u>ENFERMEDADES AUTOINMUNES (más frecuentes)<sup>63</sup>:</u> - Esclerosis múltiple. - Esclerodermia. - Artritis reumatoide. - Artritis juvenil. - Lupus eritematoso sistémico	TPH autólogo en EAI severa, que no respondan a tratamiento convencional y realizarse antes de daño orgánico irreversible.  TPH alogénico no claras indicaciones.

LAM: Leucemia aguda mieloide. SMD: Síndrome mielodisplásico. LAL: Leucemia aguda linfoblástica. LMC: Leucemia mieloide crónica. LNH: Linfoma no Hodgkin. LMMJ: Leucemia mielomonocítica juvenil. PNET: Tumores neuroectodérmicos primitivos. SNC: Sistema nervioso central. TPH: Trasplante progenitores hematopoyéticos. AR: Alto riesgo. RC: Remisión completa. EMR: Enfermedad mínima residual. TASPE: Trasplante autólogo progenitores hematopoyéticos de sangre periférica. EAI: Enfermedades autoinmunes

## **2.2 TIPOS DE TPH**

Se pueden considerar varios tipos de TPH en función del tipo de donante y según la procedencia de los PH<sup>49,64-66</sup>.

### **2.2.1 SEGÚN EL TIPO DE DONANTE<sup>67</sup>**

- TPH Autólogo (autogénico, autotrasplante): si los progenitores son obtenidos del propio paciente con anterioridad al tratamiento de acondicionamiento.
- TPH Singénico o isogénico: a partir de un gemelo univitelino.
- TPH Alogénico: individuos de la misma especie, distintos a gemelo univitelino
  - 1) Emparentado: donante familiar, habitualmente hermano HLA idéntico.
  - 2) No emparentado: donante no familiar HLA compatible. Haploidéntico.

### **2.2.2. SEGÚN LA PROCEDENCIA DE LOS PH<sup>67</sup>**

- Trasplante de médula ósea: obtenido mediante aspirados medulares múltiples en crestas ilíacas posteriores, anteriores, esternón o meseta tibial.
- Trasplante de progenitores de SP: obtenidos mediante procedimientos de aféresis, después de la movilización de progenitores hemopoyéticos a sangre periférica.
- Trasplante de progenitores de sangre de cordón umbilical (SCU): se recogen mediante punción de la vena umbilical inmediatamente después del parto.

Se ha demostrado que en el trasplante autólogo, la utilización de progenitores de SP es superior a la de MO, porque la recolección es más fácil, la mortalidad es menor y el tiempo de implante más corto<sup>68,69</sup>.

### **2.2.3. SEGÚN EL ACONDICIONAMIENTO**

El tratamiento de acondicionamiento se efectúa en los días previos a la infusión de los progenitores hematopoyéticos<sup>70</sup>. Generalmente incluye una combinación de radioterapia y/o quimioterapia. Según la intensidad de acondicionamiento podemos

dividirlo en<sup>71</sup>:

- **Mieloablato**: consiste en la administración de altas dosis de quimioterapia, radioterapia o ambas, simultánea o secuencialmente, con el objetivo de:

- Eliminar las células hematopoyéticas y tumorales del receptor.
- Crear espacio medular para la posterior proliferación de los precursores

trasplantados.

- Inmunodeprimir al paciente para reducir al mínimo el riesgo de rechazo en el caso de alotrasplante.

- **No mieloablato (trasplante de intensidad reducida, mini-alotrasplante)**: administración de potentes fármacos inmunosupresores que facilitan el implante y la progresiva sustitución de la hematopoyesis del paciente por la del donante. Estos regímenes de acondicionamiento habitualmente proporcionan una quimera mixta inicial que se convierte en quimera completa con el tiempo o mediante la infusión de linfocitos del donante. En estos trasplantes adquiere un mayor papel el efecto injerto contra enfermedad o la respuesta inmunológica antitumoral, que se encargaría de destruir la celularidad neoplásica. Al exponerse los péptidos tumorales a las células presentadoras de antígenos y éstas los exponen a los linfocitos T del donante, que se activan y pueden eliminar las células neoplásicas residuales<sup>71</sup>.

### **3. CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS**

La hematopoyesis medular es el proceso biológico que da lugar a la formación de las células de la sangre: hematíes, leucocitos y plaquetas.

Cada una de estas células tiene una vida media y una acción diferente, así la vida media de los hematíes es de unos 120 días, la de las plaquetas de 8 a 10 días; la de los leucocitos varía según al subtipo al que pertenezcan: los granulocitos, sobreviven unas 8-10 horas en el torrente circulatorio, mientras que la vida media de los linfocitos se cuenta por años<sup>72</sup>. Este proceso se mantiene activo constantemente a lo largo de la vida para mantener unas cifras hemoperiféricas estables y varía su intensidad en función a las necesidades del individuo (edad, procesos infecciosos, sangrados, etc.).

La producción diaria de hematíes y plaquetas se aproxima a las 2.500 millones por kilo de peso, y la de leucocitos a 1.000 millones/kg<sup>72,73</sup>.

La hematopoyesis en el ser humano tiene diferentes localizaciones anatómicas a lo largo del desarrollo embrionario. Se inicia en el saco vitelino durante las primeras semanas de gestación, con agregados de células muy primitivas precursoras de células endoteliales y hematopoyéticas formando islotes sanguíneos. Más adelante, entre el segundo y el séptimo mes de desarrollo embrionario el hígado, y en menor grado el bazo, ganglios linfáticos y el timo, son los lugares más importantes de producción (figura 3).

El momento en el que la MO se convierte en el principal productor de células hematopoyéticas es a partir séptimo mes de desarrollo embrionario y a partir de ahí, lo será durante toda la vida del individuo, en condiciones normales (figura 4).



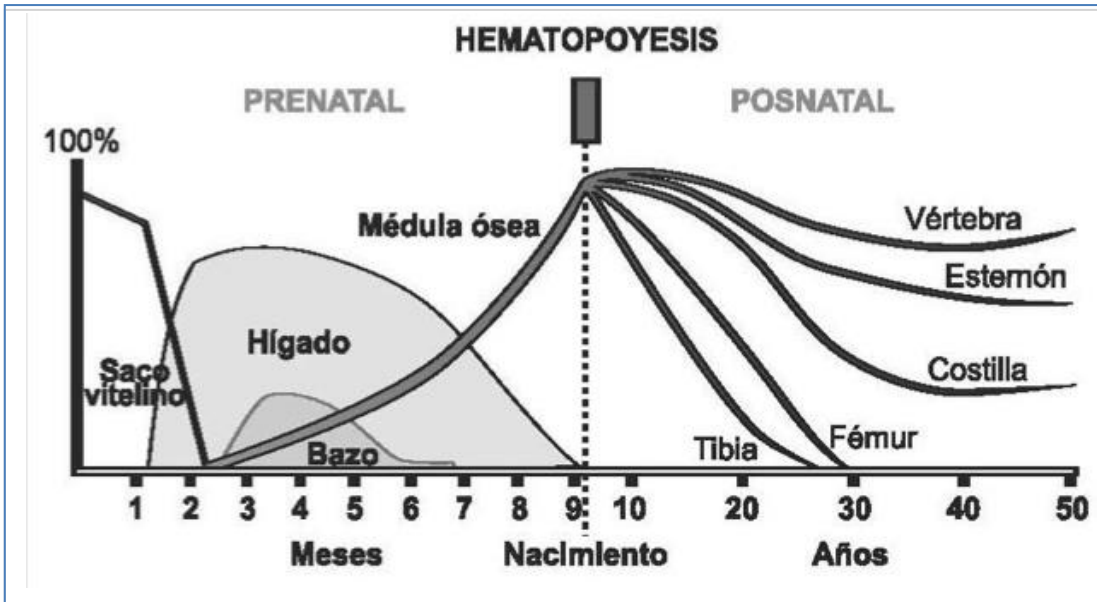


Figura 3: Localización de la hematopoyesis en el ser humano. Tomado de Majado MJ y col.<sup>74</sup>

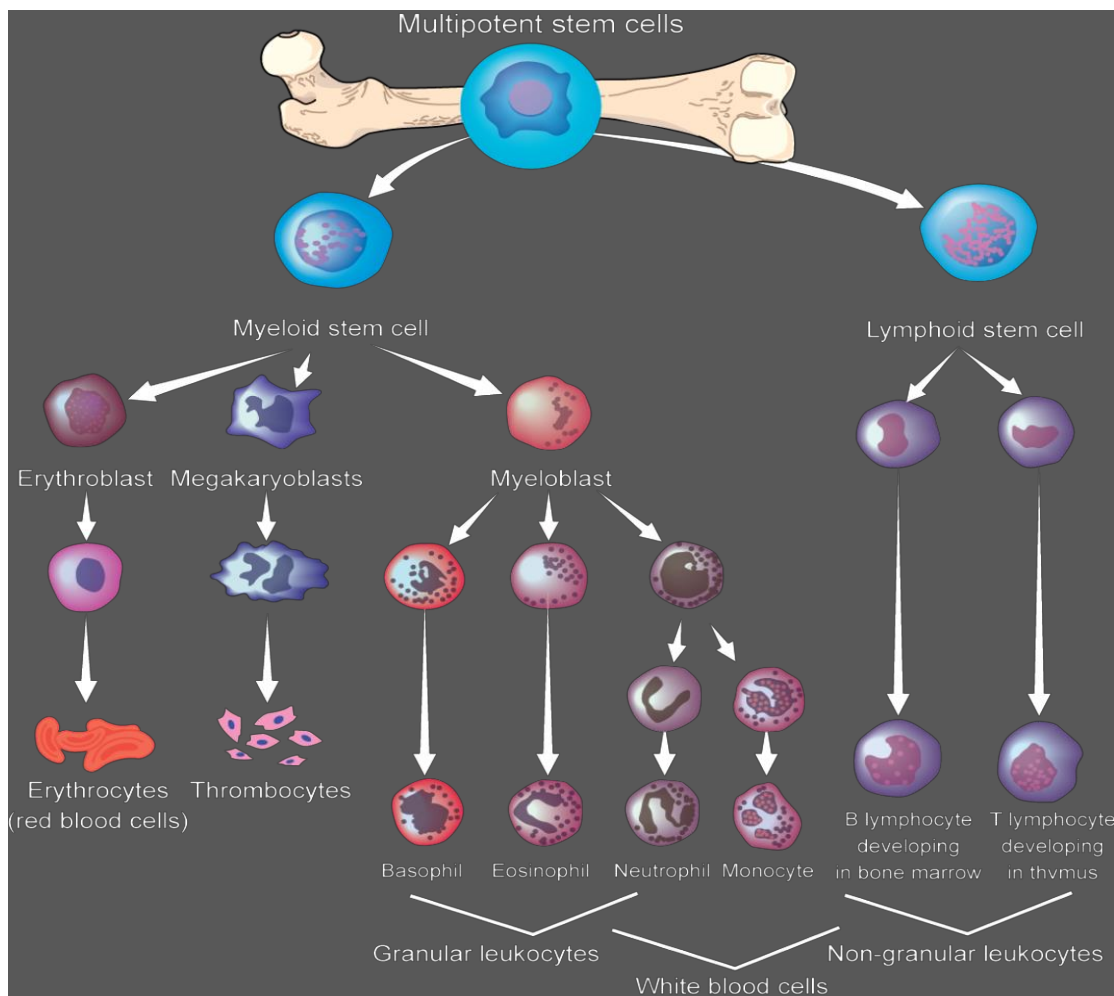


Figura 4: Proceso de hematopoyesis que da lugar a las células hematopoyéticas<sup>75</sup>.

Aún así, la MO hematopoyética no se ubica en la misma localización durante la vida, ya que si en el recién nacido el tejido hematopoyético activo (médula ósea roja) rellena las cavidades de todos los huesos, entre los 5 y 20 años de vida los huesos largos van perdiendo lentamente su capacidad de producir células hemáticas y, a partir de los 20 años, el tejido hemopoyético se reduce a las vértebras, esternón, costillas y pelvis<sup>72</sup>.

Por tanto la MO soporta toda la producción de la hematopoyesis en el adulto en condiciones fisiológicas. El hígado y el bazo mantienen una capacidad residual para la producción de células sanguíneas y, sólo en circunstancias patológicas reasumirán sus funciones hematopoyéticas ocasionando la denominada hematopoyesis extramedular<sup>72,73,76</sup>.

El microambiente de la MO, compuesto por células estromales, endoteliales, osteoblastos y otros componentes de la matriz (como colágeno, fibronectina y proteoglicanos) ofrece un anclaje a las CPH a través una amplia gama de interacciones<sup>77</sup>. Las células progenitoras hematopoyéticas expresan en su superficie moléculas de adhesión como LFA-1, VLA-4 o MAC-1; receptores de quimiocinas (CXCR4 y CXCR2); glicoproteínas de membrana CD44 y CD62L y el receptor de tirosín quinasa (c-kit) entre otras. Por su parte, el estroma medular expresa entre otros VCAM-1, PSGL-1, SDF-1, CXCL-12 y ácido hialurónico, todos ellos importantes ligandos para las moléculas de adhesión de las CPH. La inhibición de estas interacciones ligando-receptor en modelos animales han mostrado un aumento de la proliferación y migración de los progenitores medulares a sangre periférica.<sup>78</sup> (figuras 4 y 5).

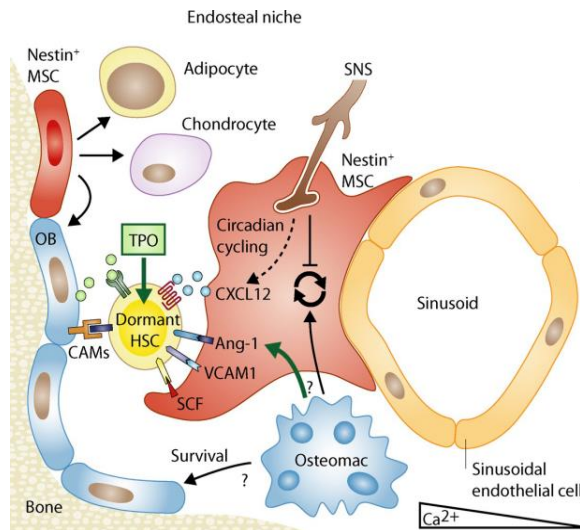


Figura 5: Modelo del microambiente MO<sup>79</sup>

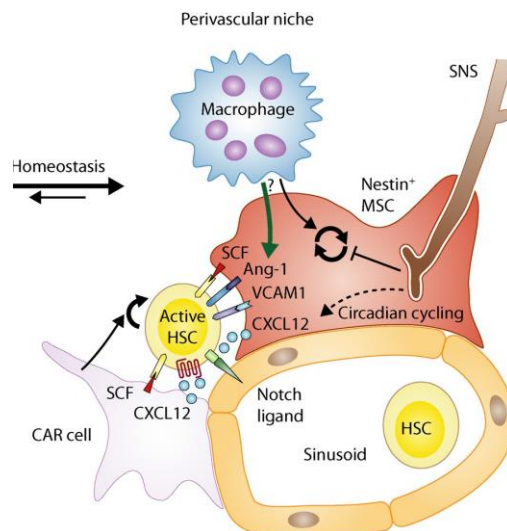


Figura 6: Modelo de activación sinusoidal de la hematopoyesis<sup>79</sup>

También se ha estudiado la relación del sistema simpático con la proliferación de los PH y hay estudios que muestran que en condiciones de estrés variable, las fibras nerviosas simpáticas producen en la MO la disminución de los niveles de CXCL 12 a través del receptor  $\beta$ -3 adrenérgico, produciendo una mayor proliferación y migración de PH en los momentos de estrés<sup>80</sup> (figura 6).

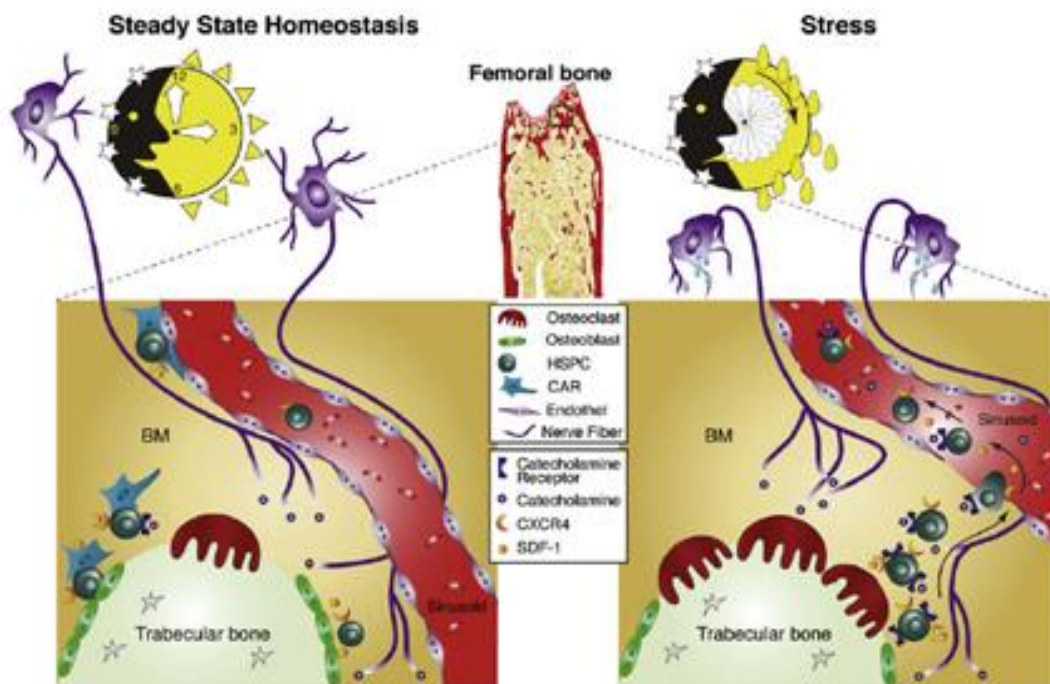


Figura7: Modelo de la migración de los PH en la MO. Tomado del Prof. Tsvee Lapidot's Lab<sup>81</sup>

En un momento determinado se produce el paso de las células hematopoyéticas diferenciadas desde los cordones medulares a la sangre periférica a través de la pared sinusoidal, que está constituida por el endotelio, la membrana basal y la capa adventicia (figura 5).

Las células sanguíneas a su paso de salida deben producir aperturas en las células endoteliales, lo que supone una barrera selectiva de primer orden; además, la capa adventicia modula la intensidad del paso de las células medulares a la circulación<sup>72,73,76</sup>.

## **4. BIOLOGÍA DE LA MOVILIZACIÓN DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS**

Las células stem hematopoyéticas se caracterizan por presentar antígenos de superficie más o menos específicos de cada estadio de diferenciación. Así, muchos PH y sus precursores, incluido el pool de verdaderas células stem hematopoyéticas expresan el antígeno CD34<sup>+</sup>. Así, el marcador de superficie CD34<sup>+</sup> es comúnmente usado como marcador de la eficiencia de la movilización, desechando que muchas células CD34<sup>-</sup> también presentan capacidad de diferenciación multilínea, por lo que contribuirán al injerto hematopoyético<sup>82-84</sup>.

Las CPH CD34<sup>+</sup> se encuentran circulando en la sangre periférica de los sujetos sanos en muy pequeña proporción (menos del 1% de las células nucleadas). El fenómeno de movilización se define como el incremento transitorio de células progenitoras circulantes que ocurre en determinadas circunstancias, como la recuperación de la hematopoyesis tras una aplasia post-quimioterapia y fue descrito por Richman a finales de los años 70. En los años siguientes, se desarrollaron los procedimientos de movilización que hoy conocemos, basados en la utilización de factores estimuladores de colonias hematopoyéticas solos o en combinación con diferentes agentes quimioterápicos<sup>85-90</sup>. En el contexto del trasplante autólogo de CPH utilizando técnicas convencionales de leucoaféresis, la cantidad de células CD34<sup>+</sup> movilizadas es variable, aunque existen algunos factores que predicen su éxito como la enfermedad de base, los tratamientos previos recibidos, el agente movilizador administrado y otros factores menos conocidos<sup>86,91,92</sup>.

Para realizar un injerto autólogo con éxito, está establecido que es necesario infundir un mínimo de **2x10<sup>6</sup> células CD34<sup>+</sup>/kg de peso del receptor**.

Con el objetivo de garantizar esta colecta, en muchos centros tienen establecido un dintel mínimo de células progenitoras circulantes previas al inicio de la aféresis, que oscila entre 10 y 20 células CD34<sup>+</sup>/μL. Sin embargo, alrededor de un 20% de los pacientes candidatos a un trasplante autólogo no alcanzan esas cifras y no movilizan adecuadamente, son los denominados “malos movilizadores”<sup>93</sup>.

Las células CD34<sup>+</sup> de sangre periférica se recolectan utilizando máquinas de aféresis de flujo continuo y se ha descrito que el proceso de aféresis en sí mismo juega un papel movilizador<sup>96-98</sup>. En concreto, el procesamiento de más de tres veces el volumen de sangre circulante o “aféresis de alto volumen” (AAV), mejora el rendimiento en la recolección de células CD34<sup>+</sup><sup>45,94-98</sup>.

Humpe et al<sup>99</sup> lo justifica explicando que existe un equilibrio entre el número de CPH circulantes y en la MO, de forma que la aféresis continuada podría producir la disminución de las CD34<sup>+</sup> en SP durante la aféresis. Pero se produce un aumento en las bolsas de recogida que puede ser bien descrito por un modelo de cinética celular que consta de tres compartimentos: médula ósea, sangre periférica y el volumen extracorpóreo, donde la disminución de los CD34<sup>+</sup> en SP produce en la MO una movilización de los PH hacia la SP lo que lleva a una mayor recogida en el proceso de aféresis.

#### **4.1 MOVILIZACIÓN INDUCIDA POR CITOCINAS**

Los factores de crecimiento granulo-monocítico (GM-CSF) y granulocítico (G-CSF) así como el AMD3100 son los únicos agentes aprobados actualmente por la FDA y la EMA para la movilización de las células stem para los trasplantes autólogos de MO. Estos agentes se han desarrollado en los últimos 20 años<sup>100-101</sup>.

En la figura 8 se resume el mecanismo por el cual las diferentes citocinas ejercen su efecto movilizado de los progenitores hematopoyéticos que se explicará cada uno con detalle posteriormente.

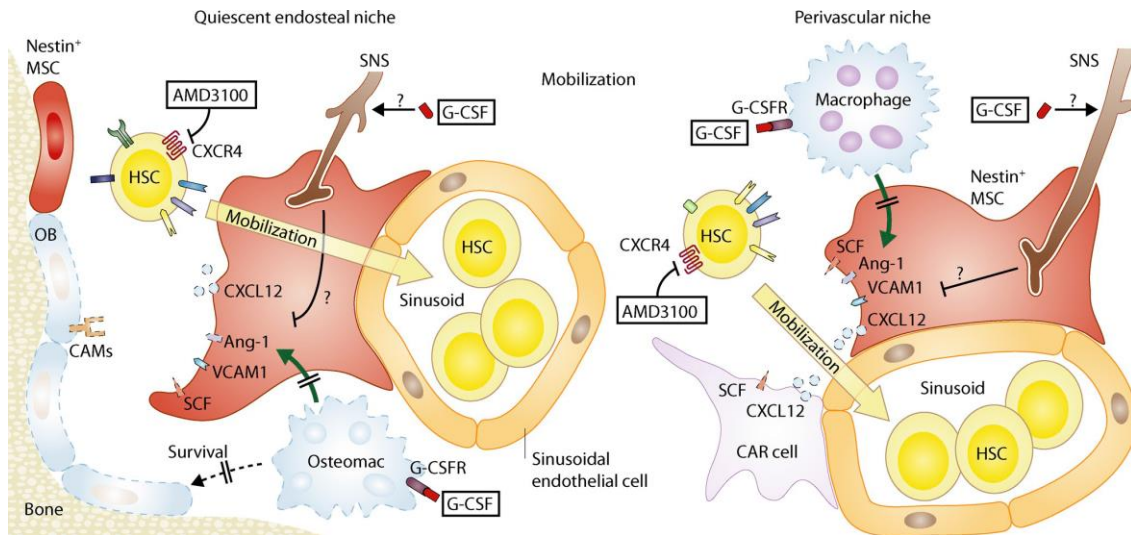


Figura 8<sup>78</sup>: Efecto de los diferentes factores de crecimiento y citocinas en movilización de los progenitores hematopoyéticos.

#### 4.1.1 GM-CSF: *Sargramostim (Leukine®)*

Induce la proliferación y diferenciación de los progenitores hematopoyéticos, 102,103 .

La administración de GM-CSF con quimioterapia (QMT) como esquema movilizador, tiene una respuesta similar a la de G-CSF más QMT pero con un incremento de los efectos adversos moderados y serios como: reacciones cutáneas, artralgias, dolores óseos, mialgias y fiebre con escalofríos<sup>103-105</sup> .

Por tanto, su uso como agente movilizador es poco común.

#### 4.1.2 G-CSF: *Filgrastim (Neupogen®, Nivestim®, Zarzio®)*.

En presencia de G-CSF, el número de células mieloides comprometidas a la línea granulocítica se incrementa, lo cual produce la liberación de serín-proteasas activas de neutrófilos: catepsina G y neutrófilo elastasa, junto con la metaloproteinasa-9 al micromedioambiente medular resulta en la degradación de moléculas de adhesión y la liberación de células CD34<sup>+</sup> a la sangre periférica<sup>106-109</sup> .

No obstante, los mecanismos biológicos por los cuales las citocinas inducen la movilización de sp son complejos y no conocidos completamente<sup>110</sup> . Se sabe que el

pico de los niveles de las CD34<sup>+</sup> ocurre en el quinto día tras la administración de G-CSF<sup>106</sup>.

G-CSF es el agente movilizador de las SC más utilizado<sup>111,112</sup>. Cuando se usa solo, se administra a una dosis de entre 10 y 20 microgr/kg sc al día repartido en dos dosis, comenzando al menos 4 días antes de la primera sesión de aféresis y continuando hasta la última sesión<sup>106,113</sup>. La movilización con G-CSF es generalmente bien tolerada; siendo los efectos adversos más comunes los dolores óseos, dolor de cabeza, anemia y trombopenia. Otros efectos adversos frecuentes incluyen fatiga, mialgias, náuseas, vómitos y epigastralgia. Los efectos adversos (AEs) graves son raros, se han descrito casos de infarto de miocardio o isquemia cerebral o rotura esplénica. En pacientes con anemia falciforme movilizados con G-CSF se han descrito crisis venooclusivas y distress respiratorio agudo<sup>106</sup>.

Schmitz et al<sup>68</sup> establecieron la eficacia de G-CSF como agente único para la movilización de progenitores hematopoyéticos en sp para autotrasplante de PH. Compararon la eficacia de G-CSF para movilización de PH en sp frente a movilización en MO y concluyeron que la movilización con G-CSF en sp es eficaz y más efectivo que la realizada en MO, y además reduce el número de transfusiones de plaquetas y el tiempo de espera al comparar los dos procedimientos.

#### 4.1.3 GM-CSF MÁS G-CSF

Estos regímenes de combinación no han demostrado tener beneficios sustanciales sobre los regímenes que utilizan G-CSF solo, por lo tanto, GM-CSF y G-CSF no se administran juntos para la movilización en primera línea. Sin embargo, la combinación de G-CSF y GM-CSF se llegó a utilizar como un régimen de rescate tras un fallo de movilización con G-CSF en monoterapia<sup>114</sup>.

Boeve et al<sup>114</sup> compararon en pacientes que habían fallado a la movilización con G-CSF a dosis estándar la combinación de G-CSF más GM-CSF versus altas dosis de G-CSF. Los autores llegaron a la conclusión de que, en comparación con la movilización con altas dosis de G-CSF, movilizar con G-CSF más GM-CSF era igualmente eficaz y



conllevara un menor coste<sup>102,115</sup>. También se ha visto que los EAs de ambos juntos son similares a cuando se usan por separado ambos productos<sup>115</sup>.

#### **4.1.4 PEGFILGRASTIM. Pegfilgrastim (Neulasta®, Amgen Inc.)**

G-CSF pegilado es una variante de mayor duración del G-CSF con una vida media de 33 h, sustancialmente más larga que las 4 a 6 horas de vida media del G-CSF<sup>116</sup>. Una baja tasa de eliminación renal permite que una sola dosis de pegfilgrastim de lugar a niveles séricos clínicamente eficaces para la recuperación de neutrófilos<sup>116</sup>. Numerosos estudios han comparado su efecto frente a G-CSF convencional, demostrando ya no solo su no inferioridad, sino su mayor capacidad de movilización<sup>117,118</sup>, tanto en buenos como en malos movilizadores.<sup>119</sup>

La necesidad de una única dosis y mayor eficacia que G-CSF conlleva una reducción de los recursos necesarios para el proceso, ya que requiere una menor cantidad de producto para inducir la movilización y por su rapidez, reduce el tiempo entre el inicio de la movilización y la recolección de PHSP<sup>116</sup>.

En cuanto a su dosis, se han estudiado diferentes dosis eficaces. Inicialmente se demostró la dosis eficaz de 12 mg en paciente movilizados que padecían MM<sup>120,121</sup> y hay estudios que al comparar 12 mg versus 6 mg, muestran que las dosis más bajas son igual de eficaces que las más altas y con menor tasa de efectos secundarios<sup>117</sup>.

A día de hoy, pegfilgrastim solo tiene autorizado su uso para prevenir las neutropenias tras QMT y a una dosis de 6 mg.

El pegfilgrastim es bien tolerado, con un perfil de efectos adversos similares a la de G-CSF<sup>122</sup>.

#### **4.1.5 LENOGASTRIM. Lenogastrim (Granocyte®)**

Es un G-CSF glicosilado aprobado como agente movilizador de PHSP. Se han realizado diferentes estudios en la movilización en pacientes con mieloma o linfoma previo a la recogida de CD34<sup>+</sup> demostrando su eficacia. Al compararlo con otros agentes como filgrastim, algunos estudios sugieren que se requieren menos dosis para

obtener la misma eficacia<sup>117,123-125</sup>. Sin embargo otros, muestran una eficacia similar a dosis bioequivalentes<sup>126</sup>.

Los efectos secundarios no difieren al resto de factores, siendo los más frecuentes los dolores osteomusculares<sup>124</sup>.

La dosis recomendada de lenogastrim en combinación con QMT es de 150 µg (19,2 MUI) por m<sup>2</sup> y día, equivalente terapéuticamente a 5 µg (0,64 MUI) por kg de peso corporal y día, comenzando dentro del intervalo de 1 a 5 días después de la finalización del tratamiento quimioterápico, de acuerdo al régimen quimioterápico administrado para la movilización y debe mantenerse el tratamiento hasta la última aféresis. Mientras que como agente único es de 10 µg (1,28 MUI) por kg y día, durante 4-6 días y la aféresis debe realizarse entre los días 5 y 7<sup>127</sup>.

#### **4.1.6 G-CSF EN COMBINACIÓN CON QUIMIOTERAPIA**

Antes del desarrollo de citoquinas hematopoyéticas como agentes de movilización, se habían observado aumentos transitorios en el número de células madre hematopoyéticas en la sangre periférica después de la administración de quimioterapia mielosupresora<sup>125</sup>. Por lo tanto, los primeros protocolos para movilizar las células madre hematopoyéticas en la sangre periférica utilizan la quimioterapia sola<sup>128</sup>. Cuando el G-CSF y el GM-CSF aparecieron en el mercado, se demostró que la administración diaria de cualquiera de estos agentes tras la administración de un agente quimioterapéutico mejoraba la recolección de células madre hematopoyéticas<sup>129,130</sup>.

Agentes quimioterápicos mielosupresores, como ciclofosfamida (Cy) y paclitaxel, inducen aplasia que estimula la recuperación hematopoyética<sup>131,132</sup>.

El efecto de la movilización es altamente variable con picos de 10-18 días después de la administración de la quimioterapia y generalmente se correlaciona con rebote recuento de neutrófilos después de un nadir inducido por la quimioterapia<sup>133</sup>. Los investigadores han especulado que la movilización con Cy más G-CSF puede tener un efecto sinérgico sobre la liberación de proteasas granulocíticas que escinden las uniones de moléculas de adhesión con sus ligandos<sup>134</sup>. Los aumentos de concentración

de metaloproteinasa-9 después de la movilización con quimioterapia más G-CSF se correlaciona con una movilización más eficiente<sup>134</sup>.

En pacientes que han recibido ya tratamiento quimioterápico previo, el uso de QMT como movilización puede retrasar el injerto, sobre todo de plaquetas y en menor medida de neutrófilos<sup>135-137</sup>.

Así mismo, también puede provocar a largo plazo la aparición de otras patologías como el síndrome mielodisplásico, aunque este riesgo ya está presente con el uso de quimioterapia previo para el tratamiento de la enfermedad<sup>138</sup>.

En aquellos pacientes con linfoma o mieloma para los que la movilización inicial con Cy y factores de crecimiento ha fallado, los regímenes de combinación de etopósido y citoquinas a alta dosis han demostrado ser estrategias eficaces para la removilización<sup>139</sup>.

Aunque el uso de G-CSF más la quimioterapia es generalmente más eficaz que el uso de G-CSF solo para los intentos de segunda movilización, la administración repetida de agentes quimioterapéuticos para la movilización introduce toxicidad adicional y puede no ser el enfoque preferido para pacientes en los que quimiosensibilización haya fallado<sup>140</sup>.

#### **4.1.7 NUEVOS AGENTES**

A medida que la comprensión de las interacciones de las células madre hematopoyéticas con el microambiente de la MO crece, se van desarrollado agentes movilizadores útiles para mejorar el rendimiento de movilización de CD34<sup>+</sup> sin introducir toxicidad adicional.

##### **4.1.8.1 PLERIXAFOR (*Mozobil®; Genzyme GmbH, Neu-Isenburg, Germany*).**

Es un antagonista selectivo y reversible de la citocina CXCR4 que altera su interacción con SDF-1 (figura 8) liberando de este modo las células madre hematopoyéticas a la circulación<sup>141-143</sup>.

Existen estudios en pacientes con mieloma múltiple o linfoma no Hodgkin que mostraron que la administración de plerixafor aumentaba significativamente el

número de células CD34<sup>+</sup> durante la aféresis en comparación a las obtenidas con G-CSF y placebo<sup>144</sup>.

En pacientes en los que la movilización con G-CSF ya sea solo o en combinación con la quimioterapia ha fallado anteriormente, la administración conjunta de plerixafor más G-CSF produce un aumento de CD34<sup>+</sup> de hasta 5 a 100 veces la respuesta de G-CSF único o en combinación con QMT<sup>144-149</sup>.

En general, el tratamiento con plerixafor y G-CSF se asocia con efectos secundarios similares a los observados con el tratamiento con G-CSF solo. Los acontecimientos adversos más frecuentes fueron efectos sobre el tracto gastrointestinal, como diarrea, náuseas y vómitos y en el lugar de la inyección, reacciones tales como eritema o edema<sup>148,149</sup>.

La dosis recomendada de plerixafor es de 0,24 mg/kg de peso/día. Debe administrarse de 6 a 11 horas antes de iniciar cada aféresis y después de pretratamiento con G-CSF de 4 días de duración. En los ensayos clínicos, con frecuencia se ha utilizado Mozobil de 2 a 4 (y hasta 7) días consecutivos<sup>150</sup>.

## **5. PROCESO DE AFÉRESIS Y RECOGIDA DE CD34<sup>+</sup>**

La recolección mediante aféresis de sangre periférica se ha convertido en la práctica más común de obtención de progenitores para llevar a cabo el trasplante hematopoyético en pacientes con neoplasias hematológicas y no hematológicas.

Existen en el mercado una gran variedad de máquinas de aféresis, algunas de ellas ya sin comercializar, entre ellas: MCS+ (Haemonetics Corp., EE.UU.) (MCS +)<sup>151</sup>, COBE Spectra (CaridianBCT, EE.UU.) (Spectra)<sup>152</sup>, Fenwall CS-3000 y Amicus (Baxter Healthcare Corporation, EE.UU.) (Amicus)<sup>152</sup> (figura 9).

Los procesadores considerados idóneos para la recolección de PH son los denominados de flujo continuo. Estos sistemas utilizan simultáneamente durante todo el proceso dos accesos venosos, uno para extraer la sangre del paciente o donante y otro para devolvérsela deplecionada del componente que está recogiendo. De esta manera se consigue que el volumen de sangre en el circuito extracorpóreo sea mínimo y que la devolución al paciente de sangre anticoagulada con quelantes del calcio sea paulatina, y con todo ello, una mejor tolerancia. En conjunto, en los procesadores de flujo continuo es posible procesar mayores volúmenes de sangre y conseguir un mejor rendimiento que con los de flujo discontinuo (equipos que utilizan una sola vía por la que extraen y devuelven la sangre alternativamente)<sup>153</sup>.

En nuestro estudio se empleó el procesador Fenwall CS-3000. Este aparato realiza una separación en dos fases. La sangre pasa a través de unas bolsas encajadas en unas cámaras rígidas con un relieve interno especial, y dentro de ellas se somete a la fuerza centrífuga. La primera cámara que atraviesa la sangre, llamada cámara de separación, separa los hematíes y granulocitos de los restantes componentes sanguíneos y se devuelven al paciente directamente. La última fracción, denominada plasma rico en componentes, es bombeada hacia la segunda cámara, llamada cámara de recolección. El relieve interno de esta cámara hace que, sometido este producto a la fuerza centrífuga, la parte más densa del plasma rico en componentes –las CMN– quede retenido en la bolsa mientras el plasma y la mayor parte de las plaquetas salen de ella para ser devueltos al paciente<sup>154,155</sup>.



Figura 9: Diferentes máquinas de aféresis (tomado de una presentación del Dr. García Erce. MEDICAL DOCTOR, PhD, Hematology Specialist, Transfusion Medicine at SALUD. Mexico.

En principio, la recolección no entraña grandes complicaciones pero su eficacia se puede ver comprometida por diferentes causas, como son<sup>153,155</sup>:

- Las relacionadas con el acceso venoso. Para subsanarlo, la recolección de PH para uso autólogo se debe llevar a cabo a través de accesos venosos de doble luz y de gran calibre. Los catéteres tunelizados de larga duración, tipo Hickman, son de los más usados en estos casos, ya que además de utilizarse para la recolección sirven también en el propio trasplante.

- Los catéteres también presentan problemas, sobre todo por disminución del calibre (ya sea por bandas de fibrina en su interior, acodamientos,...) con lo que cuando se necesita un alto flujo, si el calibre no es grande puede ser dificultosa la realización del proceso.

- Intolerancia clínica, casi siempre derivados de episodios de hipocalcemia por efecto del citrato utilizado como anticoagulante o manejo de volúmenes (hipotensión).

- Problemas propios de la máquina de aféresis.

## **6. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL ÉXITO DE LA RECOLECCIÓN DE LOS PHSP**

Existe un acuerdo generalizado en que el número mínimo de CPH CD34<sup>+</sup> a recolectar para garantizar el injerto del trasplante es de  $2 \times 10^6$  cels/kg, aunque la mayoría de los centros intentan recoger cifras superiores que pueden superar los  $5 \times 10^6$  cels/kg<sup>156,157</sup>.

Para iniciar la recogida y conseguir este número mínimo de CD34<sup>+</sup> es recomendable partir de un número mínimo de CD34<sup>+</sup> en SP, que oscila según los autores entre 10 y 20 CD34<sup>+</sup>/μL<sup>93</sup>.

En algunos centros, además del número de CD34<sup>+</sup> aún se estudia el número de CFU-GM ya que son un indicador "in vivo" de un buen injerto<sup>157</sup>.

El volumen de sangre procesada en cada aféresis varía de unos centros a otros, y aunque lo habitual es procesar entre 5-10 litros, algunos procesan una media de 15 litros<sup>158</sup>.

El número de células recogidas varía mucho de unos pacientes a otros, ya sea por la enfermedad de base, tratamiento aplicado, número de recaídas, situación en el momento de la recogida y de otros factores<sup>93</sup>. Resulta de gran interés conocer anticipadamente los factores que nos puedan indicar si la movilización de estos pacientes puede ser dificultosa. Se han invocado, entre otros, el uso de agentes alquilantes, tratamientos previos con quimioterapia (QMT) y radioterapia (RDT), edad avanzada<sup>98,158</sup>,....

### - DEFINICIÓN DE POBRE MOVILIZADOR

Se admite la definición de malos movilizadores la recientemente publicada por Olivieri<sup>93</sup>, según unos criterios que se exponen en la tabla 2.

**Tabla 2: Definición de mal movilizador probado y probable según Olivieri et al. A, Bone Marrow Transplant. 2011 May 30<sup>93</sup>.**

DEFINICIÓN		CÓDIGO	CRITERIO
MAL MOVILIZADOR PROBADO	MAYORES	1	Si los CD34 <sup>+</sup> circulantes son < 20/ μL a los 6 días tras la movilización con G-CSF 10 microgr/Kg/día, o a los 20 días tras la movilización con QMT + G-CSF 5 μgr/Kg/día)
		2	Si tras 3 aféresis, hay < 2.0x10 <sup>6</sup> CD34 <sup>+</sup> /kg
PROBABLE MAL MOVILIZADOR	MENORES	3	Fallo recolección previa.
		4	RDT extensa previa en la médula ósea.
		5	Dosis plenas previas de tratamiento que incluyan: melfalan, fludarabima u otras terapias que afecten potencialmente a la movilización de stem cell.
		6	Enfermedad avanzada (> o = a 2 líneas de tratamiento)
		7	Enfermedad refractaria
		8	Médula ósea con afectación importante
		9	Médula ósea con una celularidad < 30% en el momento de la movilización.
		10	Edad > 65 años



Este investigador describió tres momentos en los que puede ser interesante valorar si un paciente será o no mal movilizador:

- antes de la movilización: para ayudar a los pacientes de alto riesgo de serlo.
- durante la misma: marcada por la capacitación biológica, para permitir indicar cambio de tratamiento (aumentar dosis de G-CSF, añadir otros fármacos,...).
- tras la misma: Una vez obtenidos los PH, en su proceso de selección.

Los criterios descritos por Olivieri et al<sup>93</sup> fueron validados en el estudio de Piccirillo et al<sup>159</sup>, que estudiaron a 227 pacientes con diversas patologías hematológicas que requerían aféresis de PHSP y los clasificaron en buenos o malos movilizadores según los criterios de Oliveri, llegando a las mismas conclusiones.

La edad ha sido analizada en varios estudios como factor predictivo del éxito de las aféresis, y en todos se concluye que los pacientes en edad pediátrica son los que mejor movilizan mientras que los mayores de 65 años los que peor lo hacen<sup>98,160-162</sup>.

En cuanto a la patología de base, el grupo italiano de trasplante de médula ósea, publicó un estudio retrospectivo<sup>93</sup> indicando que al menos el 15% de los pacientes con mieloma múltiple tienen fallo de movilización y que es importante identificarlos para poder usar una estrategia de recogida adecuada<sup>93</sup>.

Otro factor que se ha identificado como predictivo de la eficacia de la recolección de PH es la cifra basal de plaquetas, siendo el grupo de Zubair et al<sup>163</sup> quien lo estudió en pacientes con discrasias de células plasmáticas. Los autores justifican este efecto porque los pacientes con menor cifra basal de plaquetas suelen ser aquellos en los que han precisado más líneas de tratamiento o han recibido agentes alquilantes o tienen más edad. No obstante hay estudios con resultados contradictorios respecto a este tema<sup>164-166</sup>,...

## **7. AFÉRESIS DE ALTAS VOLEMIAS**

La aféresis de altas volemiyas (AAV) se definen como el procesamiento de un mínimo de 15 litros de sangre periférica<sup>167-169</sup> o el procesamiento de más de tres veces el total del volumen de sangre del paciente<sup>169,170</sup>.

Se ha indicado que la propia aféresis produce un efecto movilizador<sup>170-172</sup>. Existen varias teorías al respecto, siendo la más aceptada la de la existencia de tres espacios (médula ósea, torrente sanguíneo y el volumen extracorpóreo). Según esta hipótesis la aféresis produce una disminución de PH en el torrente sanguíneo que provoca una estímulo en la MO para aumentar su proliferación y diferenciación, así como un mayor transvase de las células PH medulares a la sp, lo que permitiría cosechar suficientes PHSP para el trasplante<sup>173,174</sup>. Este concepto se basa en estudios previos que muestran que un procedimiento de aféresis “per se” ejerce un efecto movilizador en las células madre hematopoyéticas<sup>175-177</sup>.

Las AAV pueden dar lugar a un reclutamiento intra-aféresis de células CD34<sup>+</sup> en el rango de hasta  $3,5 \times 10^6$  células CD34<sup>+</sup>/kg de peso corporal, por lo tanto representan una herramienta adicional para mejorar el rendimiento en pacientes con movilización pobre o con movilización subóptima<sup>177-179</sup>.

En un estudio se comparó el número y la composición de las células progenitoras hematopoyéticas en 88 pacientes con cáncer que se sometieron a 154 AAV, frente a aféresis convencionales realizadas en 270 pacientes con cáncer. Mientras que en el grupo de AAV un 74% de los pacientes lograron recolectar al menos a  $2,5 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup> cels/kg, en el grupo de aféresis de menores volúmenes, solo un 52% de pacientes lo consiguió. Este estudio también demostró que las AAV eran tan seguras como las convencionales; ya que no aumentaban la probabilidad de recogida de células malignas, ni modificaban el perfil antigénico de las células CD34<sup>+181</sup>.

Otros estudios han confirmado estos resultados: las AAV son más eficaces que las aféresis de volúmenes estándar, sin incrementar significativamente ni los efectos secundarios del proceso ni la recogida de celularidad maligna en el mismo<sup>178</sup>.

Por otra parte, no hubo efectos adversos de la AAV en las recolecciones en días sucesivos<sup>170</sup>. Por lo tanto, la AAV puede ser considerada como una técnica segura y

eficaz para mejorar los rendimientos totales de PBPC. En particular, los pacientes con bajas cantidades de células CD34<sup>+</sup> en sangre periférica podrían beneficiarse de un incremento de los volúmenes de procesamiento como el realizado en las AAV para obtener un número suficiente de PHSP para el trasplante. En este sentido, Andreas Humpe et al<sup>181</sup> demostraron que en pacientes considerados pobres movilizadores al realizar AAV o en algunos casos junto con Plerixafor todos los pacientes alcanzaron el dintel previsto de al menos  $2 \times 10^6$  células CD34<sup>+</sup>/kg de peso corporal<sup>182</sup>.

## **8. FASE POST-INFUSIÓN PHSP**

El acondicionamiento con altas dosis de QMT y/o RT determina una fase de aplasia medular severa que aparece inmediatamente después de la infusión de PHSP. Esta aplasia y otros efectos tóxicos del acondicionamiento determinan la mayor parte de la morbilidad y mortalidad que sufren los pacientes sometidos a un TPH autólogo a corto y medio plazo<sup>50,51,53,62,183-185</sup>.

El tiempo hasta el injerto hematopoyético es variable de unos pacientes a otros y es dependiente de múltiples factores: el tipo de neoplasia y su estado al trasplante, la infiltración medular, el tratamiento previo acumulado con citostáticos o con radioterapia, el tipo de acondicionamiento, el número de PH que se trasplantan y el uso de factores de crecimiento postrasplante, entre otros<sup>153</sup>.

El injerto hematopoyético, que suele ocurrir entre la segunda y cuarta semana tras la infusión de PH se define como la recuperación mantenida de cifras de neutrófilos en sangre periférica por encima de  $0,5 \times 10^9/L$  y de plaquetas por encima de  $20 \times 10^9/L$ , sin soporte hemoterápico<sup>186,187</sup>.

La reconstitución inmunológica se produce escalonadamente y es variable, con una recuperación rápida de los linfocitos NK mientras que los linfocitos T lo hacen durante los primeros 6 meses postrasplante y la inmunidad humoral dependiente de linfocitos B tarda en recuperarse entre 6-18 meses.







## **1 HIPOTESIS DE TRABAJO**

Gran parte del éxito del trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica radica en la obtención de un número suficiente de células CD34<sup>+</sup> que permitan un injerto adecuado<sup>93</sup>.

Está bien establecido en la literatura científica que existe una correlación directa entre el número de células CD34<sup>+</sup> infundidas en el trasplante, el tiempo al injerto y la salida de la aplasia, por lo que es generalizada la recomendación de infundir un número mínimo de  $2 \times 10^6$  células CD34<sup>+</sup> /Kg de peso del receptor<sup>156,157</sup>.

Los factores conocidos que pueden afectar a la obtención de un número suficiente de células CD34<sup>+</sup> son: la enfermedad de base cuando está avanzada o afecta la médula ósea, el tratamiento previo recibido (principalmente radioterapia, agentes alquilantes o análogos de las purinas) y otros no modificables como la edad o el sexo del paciente<sup>93,98,158,160-162</sup>.

Del mismo modo, está probado que la propia aféresis tiene un efecto movilizador de progenitores hematopoyéticos a sangre periférica, lo que sugiere que las aféresis de alto volumen (AAV), consistentes en procesar tres o más veces la volemia del paciente, podrían aumentar la eficacia de la recolección<sup>99,170-174</sup>.

Sin embargo, no existen estudios sobre los factores predictivos que pudieran incidir en la eficacia de este procedimiento (AAV).

Nuestra hipótesis es que las aféresis de alto volumen (definidas como el procesamiento de cuatro volemias del paciente), gracias a su efecto movilizador son eficaces y que con ellas se consigue recuperar el 100% de los progenitores CD34<sup>+</sup> circulantes en la SP previa al procedimiento. Esto incluye particularmente a los pacientes “malos movilizadores” (aquellos con  $<10$  CD34<sup>+</sup>/μL circulantes en el momento pre-aféresis).

Además, hipotetizamos que la eficacia de las AAV está influenciada por variables similares a las que afectan a las aféresis estándar de dos volemias.



## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 PRINCIPAL**

El objetivo principal de este estudio es analizar la eficacia de las aféresis de alto volumen en el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en relación con los siguientes factores:

1. Enfermedad de base.
2. Número de líneas de tratamiento quimioterápico previas.
3. Estado de la enfermedad de base en el momento de la aféresis.
4. Esquema de movilización utilizado.
5. Cifra de CD34<sup>+</sup> circulantes pre-aféresis.

### **2.2 SECUNDARIOS**

Como objetivos secundarios nos planteamos:

1. Estudiar el efecto movilizador de las aféresis de alto volumen.
2. Estudiar la cinética del injerto en los distintos grupos de pacientes sometidos a aféresis de altas volemias.
3. Estudiar la correlación entre los progenitores hematopoyéticos circulantes y en el producto de aféresis.
4. En base a los datos obtenidos definir las variables que nos permita caracterizar aquellos pacientes que podrían beneficiarse de aféresis de alto volumen.

## **PACIENTES Y MÉTODOS**



## **1. RECOGIDA DE DATOS**

Realizamos un estudio retrospectivo sobre los pacientes incluidos en el programa de trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos, a los que se les realizaron aféresis en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA) entre los años 1996-2005.

La indicación de intensificación con quimioterapia a altas dosis y trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE) la efectuaron los responsables clínicos de los pacientes (facultativos de los Servicios de Hematología, Oncología Médica del HCUVA y de la Sección de Oncohematología Infantil de HCUVA). Ellos fueron los encargados de informar a los pacientes acerca del trasplante, sus riesgos, así como de las posibles alternativas existentes.

En todos los casos se obtuvieron los consentimientos informados correspondientes para cada procedimiento aprobados por el comité de ética del HCUVA, siguiendo la práctica clínica habitual.

Antes de sentar la indicación del TASPE y programar la aféresis, cada paciente se reevaluó con respecto a su enfermedad de base, estado general y comorbilidades (de acuerdo a los protocolos rutinarios de actuación de la Unidad de Trasplante). Dependiendo del diagnóstico primario del paciente y de su estadiaje inicial y en función a los criterios internacionales de respuesta de cada patología se realizaron las técnicas adecuadas de evaluación en cada uno de los casos.

Una vez incluido el paciente en el programa de TPH, los datos clínicos pre-trasplante se recogieron de la historia clínica. A continuación, se obtuvieron de forma prospectiva los datos referentes a los controles realizados durante la aféresis (tanto al paciente como al producto), las características de la recolección y la cinética del injerto hematopoyético.

## **2. PACIENTES**

En 1996 se inició en nuestro centro el programa de trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TPH) de sangre periférica.

En este estudio incluimos a todos los pacientes a los que se les realizó recogida de progenitores hematopoyéticos (fueran después sometidos a THP o no), desde Enero de 1996 hasta Diciembre del 2005. En total se recogieron datos de 216 pacientes, que fueron sometidos a 531 aféresis.

Las hojas de recogida de datos incluyeron las siguientes variables:

### **2.1 PRE-AFERESIS:**

- a) **Edad** (años).
- b) **Sexo**.
- c) **Diagnóstico de la enfermedad base hematológica**.
- d) **Número de líneas de tratamiento previas recibidas desde el diagnóstico de la enfermedad**. En función al número de líneas recibidas se clasificaron los pacientes en tres grupos según hubieran recibido una, dos o tres o más líneas. La radioterapia se consideró una línea de tratamiento.
- e) **Situación clínica de la enfermedad de base previa a la aféresis**. Para su evaluación, los criterios de respuesta se basaron en las guías internacionales para cada patología diferenciando entre respuesta completa, respuesta parcial o recaída/progresión.

### **2.2. POST-TRASPLANTE:**

Los datos estudiados post-trasplante fueron:

- a) **Injerto de granulocitos**: Día post-trasplante en el que los granulocitos alcanzaron una cifra  $\geq 0.5 \times 10^9/L$  (se consideró como día cero el día de la infusión de PH).

- b) **Injerto plaquetar:** Día post-trasplante en el que las plaquetas alcanzaron una cifra  $\geq 20 \times 10^9/L$  sin haber recibido transfusión de plaquetas en las 24 horas previas (contando como día cero el día de la infusión de PH).
- c) **Días de fiebre post-trasplante.**
- d) **Días de estancia hospitalaria.**
- e) **Número de transfusiones requeridas de concentrado de hematíes (CH).**
- f) **Número de transfusiones requeridas de unidades de plaquetas (CP).**

### **3. MOVILIZACIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS.**

El esquema de movilización se realizó de manera individualizada según el esquema propuesto por Sheridan y col<sup>188</sup>.

Tras el último ciclo de quimioterapia y pasado al menos un mes para garantizar la recuperación hematopoyética, a los pacientes se les inyectó por vía subcutánea G-CSF recombinante (*filgrastim; Neupogen, Amgen Europe B.V., ZK Breda, Países Bajos*) asociado o no a ciclofosfamida (Cy). En algunos casos, la movilización se realizó añadiendo G-CSF tras la quimioterapia de la enfermedad de base (QMT)+G-CSF.

A continuación se resumen los distintos esquemas movilizadores utilizados:

1. **G-CSF en monoterapia:** G-CSF 10-20  $\mu\text{gr}/\text{Kg}/\text{día}$  s.c. desde el día -4 hasta finalizar el proceso de recolección. A efectos de movilización, se considera el día 0, el día de la primera aféresis para la recolección de PH.
2. **G-CSF + CICLOFOSFAMIDA:** Cy 1,5  $\text{gr}/\text{m}^2$  el día -10 + G-CSF 10-20  $\mu\text{gr}/\text{Kg}/\text{día}$  desde el día -4 hasta finalizar el proceso de recolección.
3. **QMT + G-CSF:** G-CSF 10-20  $\mu\text{gr}/\text{Kg}/\text{día}$  desde el día -4 hasta finalizar el proceso de recolección tras la quimioterapia.

Todo el procedimiento de movilización se llevó a cabo de forma ambulatoria, salvo en pacientes que debieron permanecer ingresados por otras causas. Para aquellos casos en los que tras una movilización no fue posible recolectar un nº suficiente de PH, se planificó una 2ª movilización pasados al menos 15 días y con un protocolo de movilización distinto.

## **4. RECOLECCIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (AFERESIS).**

### **4.1 ACCESO VENOSO**

Antes de comenzar el proceso de aféresis, si el paciente no portaba un catéter venoso central permanente (tunelizado, tipo Hickman) se le canalizó un provisional tipo Shaldom con un calibre mínimo de 9-10 fr, con el fin de obtener buenos flujos de entrada y retorno de cara al procedimiento. La colocación del acceso venoso corrió a cargo del Servicio de radiología vascular intervencionista o de la UCI del HCUVA según disponibilidad.

El **Catéter Hickman** (figura 10) es un catéter subcutáneo que consiste en un tubo flexible de silicona radiopaca cuyo extremo se aloja en una vena gruesa del tórax o ingle (yugular, subclavia, femoral, situándose su extremo distal en cava superior o cava inferior dependiendo de si la implantación es torácica o inguinal). Una parte del catéter se sitúa subcutáneamente entre la vena canalizada y la salida a la piel. Algunos de sus elementos importantes son:

- a) Catéter propiamente dicho.
- b) Manguito de dacron. Clave para la sujeción del catéter, debe situarse a 1 cm de la salida.
- c) Conexiones luer (hembra) de distintos colores para identificar cada lumen: blanco, azul y rojo.



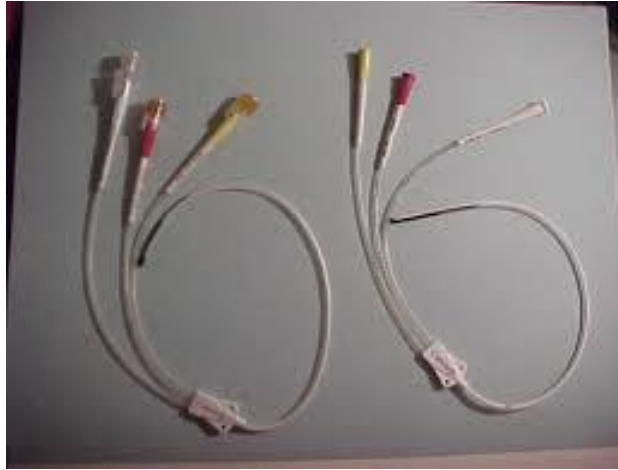


Figura 10: Catéter Hickman

El **catéter tipo Shaldom** (figura 11) suele ser de poliuretano, no tunelizado, semirrígido de gran calibre (que se utiliza por inserción en la femoral y que consta de dos luces: la arterial (de color rojo y por donde se extrae la sangre) y la venosa (de color azul y por donde retorna). A diferencia de los Hickman no disponen de manguito de dacron

Este tipo de catéteres, a diferencia de los Hickman que pueden permanecer durante largos periodos, se utilizan únicamente para momentos concretos, ya que el riesgo de infecciones es bastante alto.



Figura 11: Catéter Shaldon

## 4.2 MÁQUINA DE AFÉRESIS

Las leucoaféresis se llevaron a cabo en el procesador celular de flujo continuo Fenwal CS3000 (*Baxter, Deerfield, IL*) con un flujo de entrada de 60-80 ml/minuto, con la cámara SVCC de 50 ml y con dos programas diferentes, uno que fijaba el umbral del detector de interfase en 115 y la velocidad de la centrífuga en 1400 revoluciones por minuto y otro con umbral en 150 y centrífuga a 1600 revoluciones.

En este procesador la sangre pasa a una primera cámara (cámara de separación), en la que se centrifuga, separando los hematíes y los granulocitos que son reinfundidos directamente al paciente, el plasma rico en componentes restante (plaquetas y CMN) es enviado a una segunda cámara (cámara de recolección) donde una nueva centrifugación separa el plasma rico en plaquetas, que enviado al paciente de las CMN que quedan retenidas en la bolsa.

En cada aféresis se procesó un volumen igual a cuatro veces la volemia calculada del paciente (aféresis de alto volumen).

En las figuras 12 y 13 se muestra la máquina utilizada en nuestro servicio.

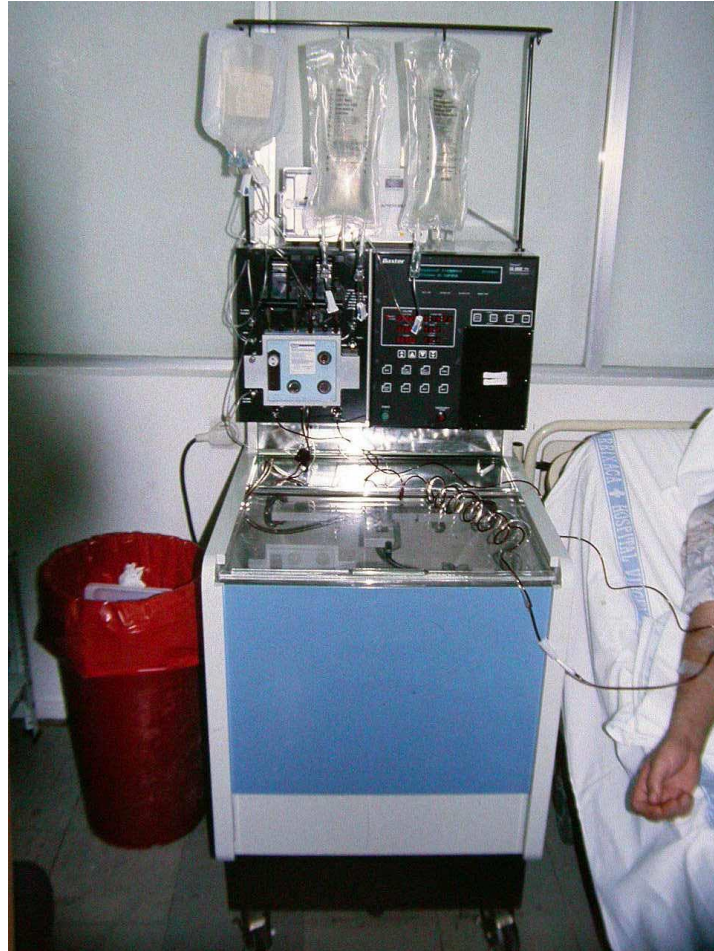


Figura 12: Fenwal CS3000 ( *Baxter, Deerfield, IL* )

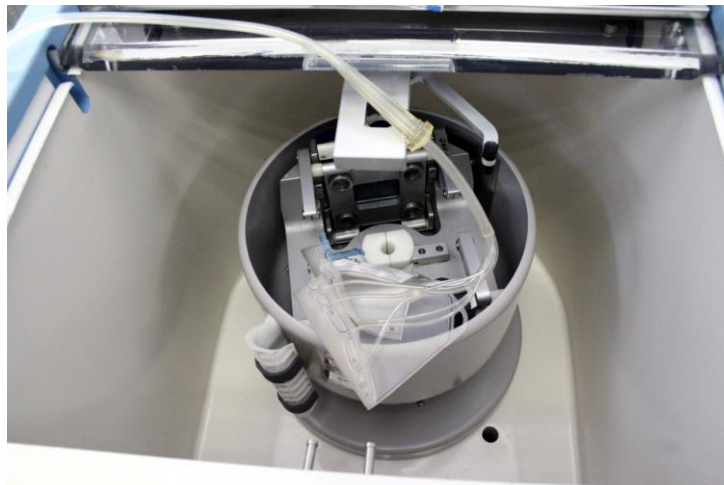


Figura 13: Fenwal CS3000 ( *Baxter, Deerfield, IL* )

### 4.3 PROCEDIMIENTO DE AFÉRESIS

Inmediatamente antes del inicio de la aféresis se tomó una muestra de sp (según se indica en el apartado 3.1) para el estudio hematimétrico y cuantificación de CD34<sup>+</sup>. Como la determinación de CD34<sup>+</sup> no era inmediata, los criterios para el inicio del procedimiento fueron:

- Movilizados con G-CSF: las aféresis comenzaron el día 5º tras iniciar el G-CSF,
- Movilizados con Cy o Cy más G-CSF, comenzaron al día 10º de la Cy, si el recuento leucocitario era  $> 2,5 \times 10^9/L$ .
- Movilizados con QMT + G-CSF entre los días 15 y 20 tras la QT, cuando el recuento leucocitario era  $> 2,5 \times 10^9/L$ .

Se continuó diariamente con las aféresis hasta alcanzar al menos  $2 \times 10^6$  células CD34<sup>+</sup>/Kg. Si tras cuatro días de aféresis consecutivos si no se alcanzaba dicha cifra se procedía a una nueva movilización pasadas al menos 3 semanas de descanso.

En los pacientes con MM el objetivo fue conseguir  $4 \times 10^6/kg$  de células CD34<sup>+</sup> para un posible doble trasplante. Así mismo, en los pacientes con cáncer de mama el objetivo fue  $4 \times 10^6/kg$  de células CD34<sup>+</sup> con el fin de realizar una inmuno-selección positiva de CD34<sup>+</sup> como procedimiento de purgado de células tumorales.

Previo a la aféresis se necesitaba saber la volemia del paciente para poder programar las aféresis de 4 volemias. Para ello se utilizó la fórmula de Nadler.

$$\text{Hombres } VS = 0.3669A^3 + 0.03219P + 0.6041$$

$$\text{Mujeres } VS = 0.3561A^3 + 0.03308P + 0.6041$$

**VS= volumen sanguíneo en litros. A= altura en metros. P= peso en kilogramos**

Inicialmente a cada paciente se le planificaba procesar en 1 leucoaféresis 4 veces su volemia (el resultado obtenido mediante la fórmula anterior).

Una vez que teníamos la volemia a procesar se siguió el protocolo para el procesador Fenwal CS3000 que se describe brevemente a continuación:

1. Se instaló el kit desechable siguiendo las instrucciones del fabricante.

2. Para adultos se seleccionó el programa “1 Especial”. En el caso de los niños el “4 Especial” para niños con volemia superior a 1,5 litros, y el programa “3 Especial” en caso de volemias inferiores a 1,5 litro.
3. Como solución para el cebado del equipo y anticoagulante durante la aféresis se perfundió una mezcla de heparina sódica (*Rovi S.A.*) más citrato-dextrosa formula A (*ACD-A; Baxter, Deerfield, IL*) a razón de 10 UI de heparina por ml de ACD-A.
4. Extracción de las muestras pertinentes al paciente.
5. Se conectaron las líneas de entrada y salida del equipo a las vías del catéter.
6. se programó la CS 3000 para procesar cuatro volemias y recoger el volumen de plasma necesario para la criopreservación (300mL).
7. Una vez procesadas dos volemias se detuvo el proceso, pasando el contenido de la bolsa de recolección a una de las bolsas de transferencia satélite (PL-732) (que denominaremos **BOLSA 1**).
8. Se colocaba de nuevo la bolsa de recolección en la centrífuga y se continuaba el proceso pulsando START/RESUME.
9. Al concluir el procesamiento de las cuatro volemias se sellaba la bolsa de recogida (que llamamos **BOLSA 2**) y se extraía una nueva muestra de sangre periférica al paciente para controles (ver apartado 5).
10. Durante todo el procedimiento se tuvieron en cuenta los posibles síntomas de hipocalcemia del paciente (producidos por el ACD), administrando calcio oral o intravenoso dependiendo de los mismos. Se controlaron las constantes vitales: tensión arterial y frecuencia cardíaca cada hora.

## **5. CONTROLES ANALÍTICOS**

Durante los procedimientos de recolección de PHSP se tomaron muestras del paciente y del producto de aféresis para recuento, citometría de flujo y cultivos clonogénicos según práctica habitual.

Las muestras estudiadas fueron:

- **Sangre periférica (SP) anticoagulada con EDTA sin diluir** (3mL y SP con heparina sin conservantes (10mL) para cultivos clonogénicos.
- **Muestras de bolsas de aféresis:** Productos intermedios y finales de la aféresis antes de la congelación, anti-coagulados según protocolo de aféresis con heparina y citrato, que se remiten a citometría en alícuotas recolectadas en tubos Ependorf (Daslab®) de 1.5ml diluidas 1:10 en PBS (phosphate buffered saline).

### **5.1. CONTROLES AL PACIENTE**

A los pacientes se les realizaron estudios analíticos, inmediatamente antes del inicio del procedimiento de aféresis, a la mitad del procedimiento y al finalizar el mismo, consistentes en:

- a) Hemograma con recuento de:
  - a. Leucocitos ( $\times 10^9/L$ ).
  - b. Hemoglobina (g/L).
  - c. Hematocrito (L/L).
  - d. Plaquetas ( $\times 10^9/L$ ).
- b) Células mononucleadas (monocitos más linfocitos) ( $\times 10^9/L$ ).
- c) Células CD34<sup>+</sup>: número de células CD34<sup>+</sup>  $\times 10^6/\mu L$
- d) Colonias CFU-GM ( $n/2 \times 10^4$  CMN sembradas).
- e) Colonias BFU-E ( $n/2 \times 10^4$  CMN sembradas).
- f) Colonias mixtas ( $n/2 \times 10^4$  CMN sembradas).

## **5.2 CONTROLES AL PRODUCTO DE AFÉRESIS**

Cada aféresis se programó para procesar cuatro veces la volemia calculada del paciente, recogiendo el producto de la aféresis en dos bolsas (bolsa 1 tras procesar las dos primeras volemias y bolsa 2 tras procesar las dos segundas volemias) como se indica en el apartado 4.3. A cada una de estas bolsas se les insertó un adaptador para toma de muestras (Fenwal Sampling Site Coupler), y con una jeringuilla de 50 mL se midió el volumen de las bolsas y se obtuvieron 0,2ml para los controles analíticos. Así se determinó:

- a) Volumen (L).
- b) Leucocitos ( $\times 10^9/L$ )= CMN ( $\times 10^9/L$ ).
- c) Células CD34<sup>+</sup> totales ( $\times 10^5$ ), y su recuperación (% de las CD 34+ totales circulantes pre-aféresis).
- d) CFU-GM totales ( $\times 10^5$ ) y su recuperación (% de las totales circulantes pre-aféresis).
- e) Colonias BFU-E totales ( $\times 10^5$ ) y su recuperación (% de las totales circulantes pre-aféresis), a partir de Enero de 2003.
- f) Colonias mixtas totales ( $\times 10^5$ ) y su recuperación (% de las totales circulantes pre-aféresis), a partir de Enero de 2003.

## **5.3 PROCEDIMIENTO ANALÍTICOS**

La metodología del estudio analítico se presenta a continuación.

### **5.3.1 HEMATIMETRÍA**

Los estudios de hemograma (Hb, leucocitos y plaquetas) se realizaron en el contador hematológico Cell dyn 3700 (Abbot laboratorios, USA) mediante espectrometría de absorción para la Hb, por dispersión óptica para los leucocitos y subpoblaciones y por impedancia eléctrica para la cifra de plaquetas.

Las muestras de sangre periférica de los pacientes obtenidas con EDTA se analizaron directamente.

Las muestras del producto de aféresis, al tener una concentración celular muy alta, se diluyeron 1/10 con PBS antes de ser pasados por el contador.

### 5.3.2 CUANTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS<sup>189,190</sup>

El análisis y cuantificación de las cifras porcentuales y absolutas (células/ $\mu$ l) de leucocitos y células progenitoras hematopoyéticas CD34<sup>+</sup>, se llevó a cabo mediante citometría de flujo multiparamétrica utilizando doble plataforma: citómetro de flujo FACSCanto-II (Beckton-Dickinson; Sección de Citometría e Inmunología Tumoral del Hospital C. U. Virgen de la Arrixaca) y contador hematológico (marca Cell dyn 3700, en el Laboratorio de Hematimetría del Servicio de Hematología del HCUVA). Para ello, se realizaba el recuento en el contador hematológico y a continuación, la muestra se remitía a inmunología para su marcaje y análisis.

El análisis se basó en el protocolo de consenso ISHAGE<sup>191</sup> y el kit de marcaje empleado fue el Stem cell kit (BD) que permite la cuantificación en cifras porcentuales las células CD34<sup>+</sup>. El número absoluto de las distintas poblaciones estudiadas se cuantificó partir del porcentaje obtenido mediante citometría de flujo y el número de leucocitos por microlitro obtenidos en el contador hematológico.

Las muestras estudiadas fueron marcadas usando la técnica de inmunofluorescencia directa en la que se empleó en un mismo tubo un cocktail anticuerpos monoclonales (CD45<sup>+</sup> CD34<sup>+</sup> CD14<sup>+</sup>) y un marcador de viabilidad celular (7AAD):

1. **7-AAD:** 7-Actinomicina D, es un marcador fluorescente con capacidad de unirse al DNA, por lo que entrará en las células NO viables (apoptóticas o necróticas). Se emplea en citometría de flujo como marcador de exclusión.
2. **CD45-FITC** (Fluoresceína): Identifica como positivos los leucocitos y permite diferenciar las distintas poblaciones mediante la intensidad de expresión del CD45 y la granularidad de las mismas (CD45 +++-SSC bajo



(linfocitos); CD45<sup>++</sup>-SSC intermedio (Monocitos), CD45<sup>+</sup>-SSC (granulocitos).

3. **CD34-PE** (Ficoeritrina): Identifica células inmaduras, están descritas como células hematopoyéticas CD34 aquellas que cumplen los siguientes criterios:
  - i. Ser células CD34<sup>+</sup> CD45<sup>+</sup>débil (intensidad inferior a la de los linfocitos).
  - ii. Tener un tamaño (Forward side scater, FSC) y granulación (Side Scater, SSC) intermedio/bajo.
  - iii. Ser viables (7-AAD negativas).
4. **CD14-APC** (Alofocianina): permite discriminar mejor la población monocitaria de los linfocitos y granulocitos.

El procedimiento empleado en el laboratorio de Inmunología fue:

1. Una vez conocido el recuento celular del contador hematológico, se ajustaba la concentración celular a 10-15 millones por ml diluyendo la muestra.
2. Se dispensaba en un tubo 10ul del coctel CD45FITC/CD34 PE, 10ul de 7AAD y 2,5 ul de CD14 APC, agitando el tubo e incubándolo 20 min a temperatura ambiente y en oscuridad.
3. Se lisaron los hematíes con solución hipotónica (1ml de lisante 1X del kit), agitando en vortex para favorecer la lisis y posteriormente la muestra se incubó 10 min a temperatura ambiente y oscuridad.
4. Se procedió a la adquisición de 100.000 eventos en el citómetro de flujo FACSCanto-II, BD.

El método de análisis para identificar las células con fenotipo de progenitor hematopoyético fue el siguiente: seleccionar “Células sin debris” y “Linfomonos” en el Plot FSC/SSC; células “vivas” 7-AAD negativas en el Plot CD45/7-AAD; CD45<sup>+</sup> en el Plot CD45/SSC; en el Plot FSC/APC-Cy7; células “CD34+CD45+bajo” en el Plot CD45/CD34; células “CD34+SSCbajo” en el Plot CD34/SSC; y los “Neutrófilos (%), Monocitos (%) y Linfocitos” en el Plot FSC/SSC (figura 14).

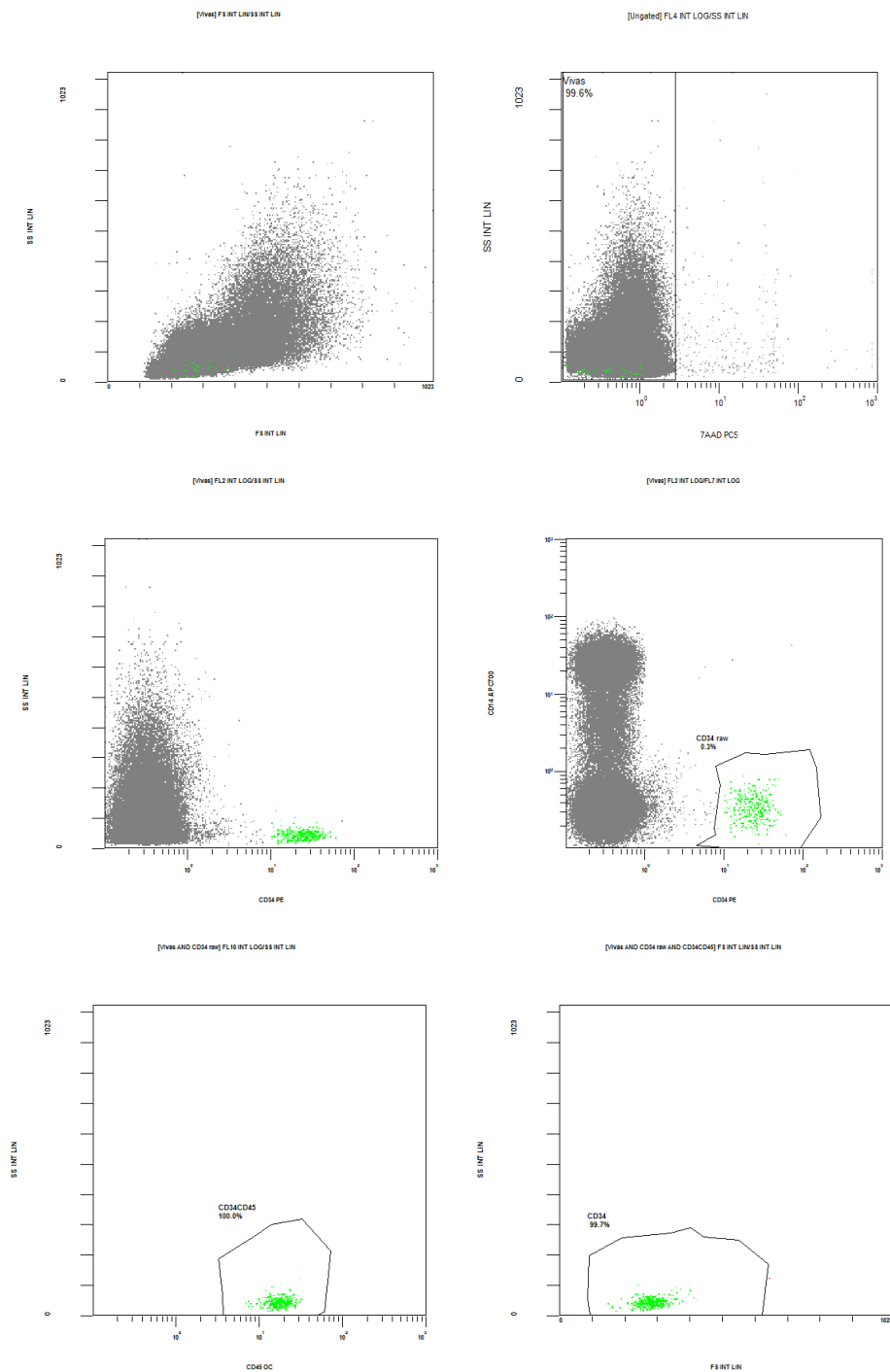


Figura 14: Citometría de flujo de células CD34<sup>+</sup>

### 5.3.4 CULTIVOS DE CLONOGÉNICOS.

Para los cultivos celulares de sangre periférica se obtuvieron las CMN mediante separación por gradiente de densidad 50/50 con Ficoll (densidad 1,077g/mL)

centrifugando a 540g/minuto durante 30 minutos a 19°C, recogiendo la capa celular interface con una pipeta Pasteur que se lavaron dos veces con PBS a 1000g/minuto durante 10 minutos fueron resuspendidas en PBS a la concentración adecuada para sembrarlas. Los cultivos del producto de aféresis se realizaron mediante siembra directa de las células obtenidas de las bolsas, previa diución en PBS hasta tener la concentración adecuada.

Los cultivos clonogénicos se realizaron mediante dos técnicas distintas a lo largo de los años de realización del estudio, pero siempre aplicando la misma técnica tanto en la sp del paciente como en el producto de su aféresis.

Hasta diciembre 2002 Los cultivos clonogénicos se realizaron con la técnica feeder-layer de Picke<sup>192</sup>:  $1 \times 10^6$  células nucleadas obtenidas de seis donantes normales, se diluía en un mililitro de medio de cultivo con agar al 5% y suero de ternera fetal al 20%, de esta suspensión se colocó un mL en cada placa de Petri de 35 mm, incubándose dos a siete días a 37°C en una atmósfera húmeda con 5% de CO<sub>2</sub>; sobre esta base efectuaron los cultivos de CFU-GM.

A partir de Enero 2003 estos cultivos se realizaron mediante la siguiente técnica: Los cultivos celulares para el estudio de progenitores granulo-macrofágicos (CFU-GM), eritroides (BFU-E) y mixtos (granulo-macrofágicos, eritroides y megacariocíticos) (CFU-GMME) se realizaron en medio semisólido *Iscove's* MDM y metilcelulosa comercial (*Methocult* H4434; *Stem Cell Technologies*, Vancouver, Canada) que contenía: suero bovino fetal, rh-SCF (*recombinant human stem-cell factor*), GM-SCF (*granulocyte-macrophage colony stimulating factor*), rhIL-3 (*recombinant human interleukine 3*), 2-mercaptoetanol, L-glutamina y rh-eritropoyetina.

En ambos procedimientos se sembraron  $2 \times 10^5$  CMN/ml en cada placa de Petri de 35 mm (1 ml por placa). Los cultivos se hicieron por cuadruplicado, incubándose durante 14 días en una estufa a 37°C con atmósfera húmeda y 5% de CO<sub>2</sub>.

La lectura se realizó a los 14 días en microscopio de luz invertida, en los cultivos realizados con feeder-layer también se estudiaron las CFU-GM tras tinción con May-Grunwald-Giemsa. Se leyó toda la placa anotando el tipo y el número de colonias observadas de CFU-GM, en ambos tipos de cultivo, mientras que las BFU-E y CFU-GMME se identificaron en los cultivos con *Methocult* (figura 15).

Se contaron el nº de colonias por placa calculando la media de éstas (suma de las colonias observadas en cada una de las cuatro placas, dividido entre cuatro) para el posterior cálculo del número total de colonias infundidas mediante la fórmula:

$$\text{Nº de colonias totales (x10}^4\text{)} = \text{media nº de colonias} \times \text{nº células totales} / 20.000$$

La cantidad total de CFU-GM infundidas en el trasplante se estimaron mediante suma del número total de las mismas en cada bolsa infundida dividido por el peso del paciente (CFU-GMx10<sup>4</sup>/kg)

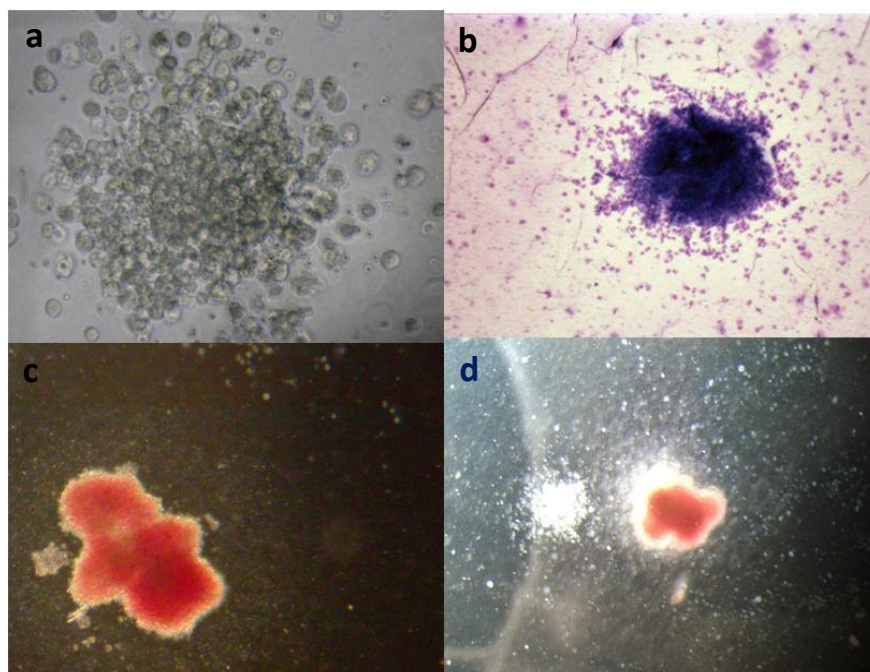


Figura 15: CFU-GM vista con microscopio de luz invertida en fresco (a). CFU-GM teñida con May-Grunwald-Giemsa (b). CFU-E (c). CFU-GMME (mixta) (d)

## 6 EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

Definimos la eficacia de la aféresis en cuanto a la recuperación de progenitores hematopoyéticos, como el porcentaje de dichos progenitores en el producto de aféresis respecto al total de los mismos circulantes pre-aféresis en el paciente. Incluimos las CMN, en los cálculos, porque: fueron, años antes la referencia para los trasplantes de MO, aún lo son en algunos protocolos de terapia celular y porque los PH se encuentran en este grupo de células.

Los cálculos efectuados fueron:

### 6.1 CÉLULAS PROGENITORAS PRE-AFÉRESIS EN EL PACIENTE

Las células CD34<sup>+</sup> totales circulantes se calcularon con la fórmula:

$$\text{CD34}^+ \text{ totales circulantes } \times 10^6 = \text{CD34}^+ / \mu\text{L} \times (\text{leucocitos } \times 10^9 / \text{L}) \times \text{volemia (L)} / 10^3$$

Para las CMN totales circulantes utilizamos la fórmula:

$$\text{CMN totales circulantes } \times 10^9 = (\% \text{ linfocitos } + \% \text{ monocitos}) \times (\text{leucocitos } \times 10^9 / \text{L}) \times \text{volemia (L)}$$

Las CFU-GM circulantes totales:

$$\text{CFU-GM totales circulantes } \times 10^4 = \text{CFU-GM por placa} \times \text{CMN circ.} / \text{células sembradas}$$

(CMN circ=CMN totales circulantes)

Las BFU-E circulantes totales:

$$\text{BFU-E totales circulantes } \times 10^4 = \text{BFU-E por placa} \times \text{CMN circ.} / \text{células sembradas}$$

(CMN circ=CMN totales circulantes)

Las CFU-GMME totales circulantes se calcularon:

$$\text{CFU-GMME circ. } \times 10^4 = \text{CFU-GMME por placa} \times \text{CMN circ.} / \text{células sembradas}$$

(CMN circ=CMN totales circulantes)

## 6.2 CÉLULAS PROGENITORAS RECOGIDAS

Las fórmulas para los PH obtenidos en cada una de las bolsas de las aféresis fueron:

$$\text{CD34}^+ \text{ totales } \times 10^6 \text{ por bolsa } = \text{CD34}^+ / \mu\text{L} \times (\text{leucocitos bolsa } \times 10^9 / \text{L}) \times \text{vol. Bolsa (L)} / 10^3$$

$$\text{CMN totales bolsa } \times 10^9 = \text{leucocitos bolsa } (\times 10^9 / \text{L}) \times \text{volumen bolsa (L)}$$

$$\text{CFU-GM totales } \times 10^4 \text{ por bolsa } = \text{CFU-GM por placa } \times \text{CMN bolsa} / \text{c.s.}$$

(c.s.= cantidad de células sembradas)

$$\text{BFU-E totales } \times 10^4 \text{ por bolsa} = \text{BFU-E por placa } \times \text{CMN bolsa} / \text{c.s.}$$

(c.s.= cantidad de células sembradas)

$$\text{CFU-GMME totales } \times 10^4 \text{ por bolsa } = \text{CFU-GMME por placa } \times \text{CMN bolsa} / \text{c.s.}$$

(c.s.= cantidad de células sembradas)

## 6.3 RECUPERACIÓN CELULAR EN LA AFÉRESIS

La recuperación de las células en cada una de las bolsas de aféresis se calculó mediante las fórmulas:

$$\text{Recuperación CD34}^+ (\%) = \text{CD34}^+ \text{ bolsa } \times 100 / \text{CD34}^+ \text{ circulantes}$$

$$\text{Recuperación CMN } (\%) = \text{CMN bolsa } \times 100 / \text{CMN circulantes}$$

$$\text{Recuperación CFU-GM } (\%) = \text{CFU-GM bolsa } \times 100 / \text{CFU-GM circulantes}$$

$$\text{Recuperación BFU-E } (\%) = \text{BFU-E bolsa } \times 100 / \text{BFU-E circulantes}$$

$$\text{Recuperación CFU-GMME } (\%) = \text{CFU-GMME bolsa } \times 100 / \text{CFU-GMME circulantes}$$

#### **6.4 CÁLCULO DE LAS CÉLULAS INFUNDIDAS.**

Las CD34<sup>+</sup> infundidas se calcularon mediante la suma de la cantidad total de CD34<sup>+</sup> de cada una de las bolsas obtenidas en la/s aféresis divididas por el peso en kg del paciente (CD34<sup>+</sup>x10<sup>6</sup>/kg).

Las CMN infundidas se calcularon mediante la suma de CMN totales de cada una de las bolsas infundidas dividida por el peso del paciente (CMNx10<sup>8</sup>/kg).

Las CFU-GM infundidas se calcularon, igualmente, mediante la suma de las que había en cada una de las bolsas infundidas dividida por el peso en Kg, las CFU-GMME y las BFU-E no se recogieron en la infusión, ya que no están consensuadas para el estudio del injerto hematopoyético.

## **7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis estadístico se utilizaró el paquete SPSS versión 15.0 para Windows y *MedCalc* versión 11.4.3.0 para Windows. Las variables categóricas se compararon mediante el test de chi cuadrado de Pearson. La correlación entre las células CD34<sup>+</sup>, las CFU y CMN se analizó mediante el test de correlación de Pearson. Las variables cuantitativas se compararon con el test de t-Student para muestras independientes, considerando la significación de acuerdo a que las varianzas fuesen o no iguales. En todos los casos se consideró diferencia significativa cuando el valor de p (probabilidad de que sea cierta la hipótesis nula) fue inferior a 0,05.

### **7.1 VARIABLES**

Los datos clínicos del paciente previos al autotrasplante fueron recogidos de la historia clínica durante la serie de leucoaféresis o el día de la reinfusión celular. Las variables analíticas y técnicas relacionadas con los procesos de aféresis y los estimadores de calidad del injerto (recuentos celulares, de colonias y citometría de flujo) se obtuvieron directamente de los registros de la Unidad de Aféresis.

Con objeto de preservar toda la información estadística aportada por las variables continuas, se han mantenido como tales, evitando su transformación en variables categóricas.

A continuación se detalla cada una de las variables empleadas como independientes o dependientes a lo largo de las distintas partes del estudio.

1. Edad. Expresada en años.
2. Volemia. En litros, calculada mediante la fórmula de Nadler.
3. Diagnóstico. Las patologías que se estudiaron fueron: cáncer de mama, mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin (incluimos alto y bajo grado), linfoma de Hodgkin, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica, leucemia mieloblástica, leucemia linfática crónica, otros (tumores sólidos no cáncer de mama y esclerosis múltiple).
4. Situación de la enfermedad previa al trasplante: Remisión completa,



- respuesta parcial, en progresión (según criterios de cada patología).
5. Número de líneas de tratamiento previas. Número de líneas recibidas desde el diagnóstico de la enfermedad. La radioterapia se consideró una línea de tratamiento.
  6. Número de ciclos de quimioterapia recibidos. Ciclos recibidos desde el diagnóstico de la enfermedad.
  7. En los pacientes, se estudiaron los siguientes parámetros antes del proceso de aféresis:
    - a. Leucocitos totales ( $\times 10^9/L$ ).
    - b. Plaquetas totales ( $\times 10^9/L$ ).
    - c. CMN totales ( $\times 10^9/L$ ).
    - d. CD34<sup>+</sup> ( $\times 10^6/L$  ó  $\times 10^6/kg$ ).
    - e. CFU-GM ( $\times 10^5$  CMN).
    - f. BFU-E ( $\times 10^5$  CMN).
    - g. CFU-GMME ( $\times 10^5$  CMN).
  8. En las bolsas de aféresis: se analizaron los siguientes parámetros: en la primera bolsa, tras dos volemias y tras su finalización (segunda bolsa tras 4 volemias):
    - a. Volumen (ml).
    - b. CMN tanto totales ( $\times 10^9/L$ ) como su recuperación (%).
    - c. CD34<sup>+</sup> tanto totales ( $\times 10^6/L$  ó  $\times 10^6/kg$ ) como su recuperación (%).
    - d. CFU-GM tanto totales ( $\times 10^5$ ) como su recuperación (%).
    - e. BFU-E tanto totales ( $\times 10^5$ ) como su recuperación (%).
    - f. CFU-GMME tanto totales ( $\times 10^5$ ) como su recuperación (%).

## RESULTADOS



## 1 PACIENTES

En este estudio se incluyeron 216 pacientes atendidos en nuestro servicio durante los años 1996-2005 por indicación de TASPE o de criopreservación de progenitores hematopoyéticos para un eventual trasplante en el futuro.

A este grupo de pacientes se les realizaron un total de 531 aféresis. Hasta la fecha final de seguimiento en Mayo de 2015 se habían trasplantado un total de 169 pacientes (78.24% del total). Únicamente en 14 casos (6,5%) no se alcanzaron los 2 millones de células CD34<sup>+</sup> por kilo de peso del paciente, establecidos como límite inferior deseado para realizar un trasplante. En estos pacientes se obtuvo una mediana de 0,93 x 10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/Kg (rango: 0,16-1,78 x 10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/Kg).

A continuación se exponen, los datos correspondientes al grupo completo de pacientes sometidos a aféresis, siguiendo con los resultados del análisis por grupos diagnósticos.

### 1.1 GRUPO TOTAL DE PACIENTES

#### 1.1.1 DATOS DEMOGRÁFICOS

De los 216 pacientes **98 eran hombres y 118 mujeres**, con una mediana de edad de 49 años (9-71 años) (tabla 3). la mayoría de los pacientes estaban dentro del grupo de entre 41 y 60 años (110) y el resto se distribuían según se puede ver en la figura 16, destacando que hubo pocos pacientes en grupo extremos edad (3 menores de 10 años y 2 mayores de 70 años).

	<b>Edad (media±EEM)</b>	<b>Sexo (H/M)</b>
<b>Grupo Total (n=216)</b>	45,3±1,0	98/118
<b>EEM: error estándar de la media. H: hombre. M: mujer</b>		

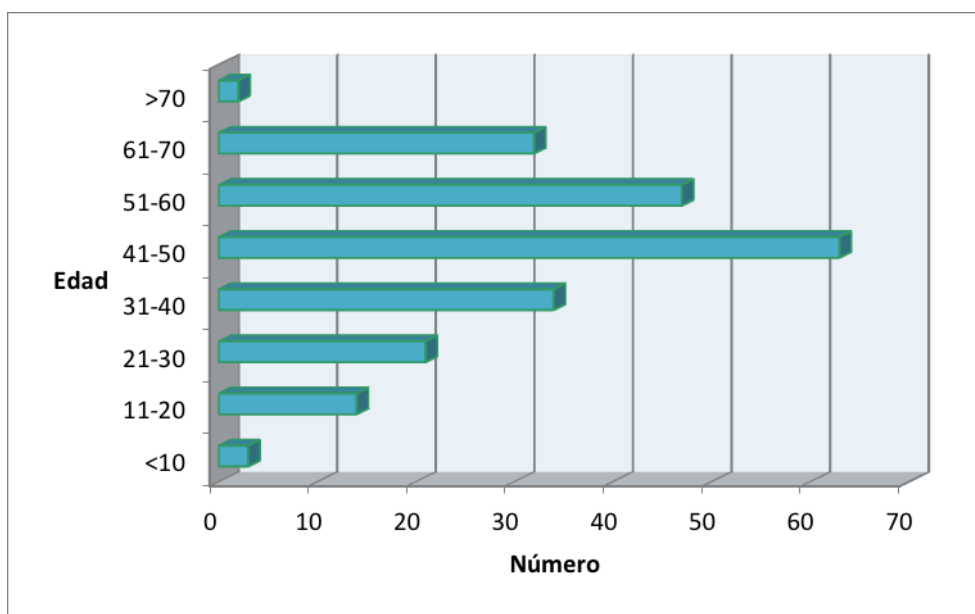


Figura 16: Distribución de los pacientes por grupos de edades.

### 1.1.2 PARÁMETROS HEMATIMÉTRICOS

Los análisis hematimétricos basales, realizados en sangre periférica del paciente antes del inicio de la primera aféresis se muestran en la tabla 4. Observamos una media de hemoglobina (Hb) inferior a la normal para la población adulta (tanto hombres como mujeres) según criterios de la OMS, así como en la cifra de plaquetas. Por el contrario, la cifra de leucocitos totales está por encima (debido al tratamiento previo con G-CSF), mientras que las células mononucleadas (CMN) si se encuentran dentro del rango de normalidad establecido por la OMS (valores de normalidad de nuestro laboratorio para CMN  $1,2-4,8 \times 10^9/L$ ).

**Tabla 4: Datos hematológicos basales del grupo total de pacientes**

	Hb (gr/dL)	Plaquetas ( $nx10^9/L$ )	Leucocitos ( $nx10^9/L$ )	CMN ( $nx10^9/L$ )
<b>Grupo Total</b>	10,8±1,6	139,6±5,2	15,3±1,4	2,7±0,4
<b>Los datos están expresados como media±EEM (error estándar de la media)</b>				

### 1.1.3 PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

La cantidad de células CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CGU-GMME en sangre periférica pre-aféresis se reflejan en la tabla 5.

**Tabla 5: Células progenitoras pre-aféresis**

	Células CD34+ (n/μL)	CFU-GM (n/2x10 <sup>5</sup> CMN)	BFU-E ( n/2x10 <sup>5</sup> CMN )	CFU-GMME ( n/2x10 <sup>5</sup> CMN )
<b>Media±EEM</b>	37,5±5,7	31,7±3,1	14,2±1,4	18,2±1,7
<b>Mediana (rengo)</b>	15,1 (0,1-885)	17,5 (0,0-255,5)	5,5 (0,0-62,6)	10,1 (0,0-101,3)
<b>EEM (error estándar de la media)</b>				

### 1.2 GRUPOS DIAGNÓSTICOS

La patología más frecuente fue el mieloma múltiple (28%), seguido del linfoma no Hodgkin (24%) y el cáncer de mama (20%). El resto de patologías fueron: enfermedad de Hodgkin (8%), leucemia mieloblástica aguda (7%), leucemia linfática crónica (5%), leucemia linfoblástica aguda (3%), leucemia mieloide crónica (3%) y otros diagnósticos (2%). En este último grupo se incluyen: un carcinoma germinal de testículo, dos sarcomas de Ewing, un tumor neuroectodérmico primitivo y un caso de esclerosis múltiple. (tabla 6).

**Tabla 6: Grupos de pacientes por diagnósticos**

DIAGNÓSTICOS	PACIENTES (%)
MM	60 (28%)
LNH	51 (24%)
EH	18 (8%)
LLC	10 (5%)
LMA	16 (7%)
LLA	7 (3%)
Ca. MAMA	43 (20%)
LMC	6 (3%)
OTROS	5 (2%)
<b>TOTAL</b>	<b>216 (100%)</b>

### 1.2.1 DATOS DEMOGRÁFICOS

La media de edad y el sexo en cada grupo diagnóstico se refleja en la tabla 5. Se encontró diferencia significativa en la edad entre los diferentes diagnósticos, especialmente el LNH mostró diferencias con los otros grupos excepto con el MM y con el grupo de “otros” diagnósticos. No hubo diferencias entre mujeres y hombres entre los diagnósticos excepto en cáncer de mama, y en grupo de LLC en el que solamente dos de los diez pacientes eran varones (tabla 7)

Diagnósticos	Edad *	Sexo (H/M) **
MM	55,5±1,2	33/27
LNH	48,2±1,1	30/22
EH	30,7±1,8	9/9
LLC	54,6±1,2	8/2
LMA	34,3±2,3	9/8
LLA	35,2±4,4	3/4
MAMA	41,9±0,9	1/40
LMC	49,6±4,1	3/3
OTROS	23,8±7,9	2/3
<b>TOTAL</b>	<b>45,3±1,0</b>	<b>98/118</b>
<b>Expresado como media ± EEM (error estándar de la media)</b>		
<b>Significación estadística</b>		
*: <b>MM</b> vs: mama y otros (p<0,050); <b>LHN</b> vs: EH, LLC, LMA, LLA y Ca mama (p<0,006); <b>EH</b> vs LLC y Ca mama (p<0,005); <b>LLC</b> vs Ca mama y otros(p<0,050); <b>LMA</b> vs Ca mama (p=0,014); <b>LA</b> vs Camama (p=0,017)		
**: <b>Ca mama</b> vs otros (p<0,001); <b>LLC</b> vs otros (p=0,035)		

### 1.2.2 PARÁMETROS HEMATIMÉTRICOS

Los resultados de las determinaciones hematimétricas realizadas antes del inicio de la aféresis se muestran en la tabla 8.

La cifra de Hb fue menor de los parámetros de normalidad de la OMS en todos los grupos, y con diferencias estadísticas entre alguno de ellos.

En lo que refiere a la cifra de plaquetas en los grupos de MM, EH, LMC, ca. de mama y otros presentaron una cifra basal dentro de los parámetros de normalidad, frente al resto de grupos que presentaban una media por debajo de la normalidad.

La cifra de leucocitos estuvo por encima de los valores de normalidad en todos los grupos, excepto en la LMA (media normal), destacando a los grupos de LMC y de otros con una media de  $78,2$  y  $60,1 \times 10^9/L$  respectivamente.

Igualmente la cifra más alta estuvo en los grupos de LMC y de otros con valores por encima de la media, y con diferencias significativas de estos dos grupos con respecto a la mayoría de los demás pero en todos los casos con un número igual o mayor a los rangos de normalidad.

**Tabla 8: Parámetros hematimétricos de los distintos grupos diagnósticos**

Diagnósticos	Hb* (gr/dL)	Plaquetas** ( $\times 10^9/L$ )	Leucocitos*** ( $\times 10^9/L$ )	CMN**** ( $\times 10^9/L$ )
MM	10,7±1,7	152,7±9,3	10,7±1,0	2,3±0,2
LNH	10,9±1,6	126,7±9,6	15,1±2,1	2,7±0,3
LLC	11,8±1,2	90,6±12,0	12,37±2,8	3,4±1,5
EH	10,8±2,2	149,1±19,3	16,3±3,2	2,5±0,3
LMA	10,6±1,5	122,6±16,6	9,2±1,7	2,4±0,4
LLA	10,6±0,6	124,6±29,6	12,8±0,6	2,4±0,6
LMC	12,0±2,0	214,8±82,1	78,21±29,5	6,8±1,7
MAMA	10,3±1,3	138,1±8,4	14,2±1,9	2,4±0,2
OTROS	11,6±1,7	188,5±51,4	60,1±18,8	5,8±1,2

Expresado como media ± EEM (error estándar de la media)

**Significación estadística:**

\*: MM vs LLC (p= 0,030); LLC vs: LMA, LLA y Ca mama (p<0,050).

\*\* : LNH vs: LLC y LMC(p< 0,028); Ca mama vs: LLC y LMC (p<0,041)

\*\*\*: LMC vs: MM, LNH, EH, LMA, LLA, LLC, CA mama y otros (p<0,050); MM vs: EH (p=0,034); LNH vs: LMA (p=0,033); otros vs: MM, EH, LMA, LLA, Ca mama y LLC vs otro (p<0,044)

\*\*\*\*: LMC vs: MM, LNH, EH, LLC, LMA, LLA, Ca mama y otros (p<0,031). Otros vs MM, LNH, EH, LMA, LLA, Ca mama (p<0,031)



### 1.2.3. PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

La media de progenitores hematopoyéticos CD34<sup>+</sup> circulantes y de unidades formadoras de colonias obtenidas de la SP de los pacientes pre-aféresis se muestran en la tabla 9.

Se observó una diferencia estadísticamente significativa en el valor de CD34<sup>+</sup> circulantes pre-aféresis en el grupo de pacientes con cáncer de mama, que fue superior al de LNH, EH, LLC, LMA.

Diagnósticos	CD34 <sup>+</sup> (n/μL)*	CFU-GM (n/2x10 <sup>5</sup> CMN)#	BFU-E ( n/2x10 <sup>5</sup> CMN )	CFU-GMME ( n/2x10 <sup>5</sup> CMN )
MM	30,9±5,6	40,7±7,1	21,7±4,2	29,2±4,3
LNH	20,2±5,2	27,8±4,6	12,3±3,3	23,6±7,2
EH	22,2±6,9	22,1±4,7	20,6±9,8	24,0±7,7
LLC	11,1±3,7	45,8±22,9	18,25±8,3	14,1±6,0
LMA	18,5±4,1	27,9±10,7	14,4±6,0	20,6±4,1
LLA	29,6±12,2	15,8±6,0	ND	ND
LMC	224,2±153,1	19,2±12,1	ND	ND
Ca. mama	52,4±10,5	31,5±7,5	ND	ND
Otros	183,1±103,8	24,3±11,8	ND	ND
<b>Expresado como media ± EEM (error estándar de la media)</b>				
<b>Significación estadística:</b>				
*: MM vs.LLA (p< 0,001), LNH vs. LMC (p< 0,001), LNH vs. Ca. mama (p=0,007), LNH vs. otros (p=0,034), EH vs. Ca. mama (p= 0,019), EH vs. LMC (p< 0,001), LLC vs. Ca. mama (p<0,001), LMA vs. Ca. mama (p=0,004), LMA vs. LMC (p= 0,017), LLA vs. otros (p=0,030), LMC vs. Ca. mama (p= 0,003)				
#: MM vs. LLA (p=0,012)				

#### 1.2.3.1 CORRELACIONES ENTRE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

Estudiamos la correlación entre el valor pre-aféresis de células CD34<sup>+</sup>,CMN y unidades formadoras de colonias mediante el test de correlación de Pearson (tabla 10) y mediante regresión lineal (figura 17).

Encontramos una correlación positiva significativa (p<0,001) entre todas ellas, excepto entre las CFU-GM y las células CD34<sup>+</sup> (tabla x). También hay que hacer notar que el índice de correlación de Pearson entre las CFU-GM y las CMN fue el más bajo,

solamente de 0,160, este hecho se refleja también en las gráficas de regresión lineal de la figura 17.

**Tabla 10: Correlación entre las células (CD34, CFU-GM, BFU-GM y mixtas) circulantes basales de los pacientes**

		CD34 <sup>+</sup>	CFU-GM	BFU-E	CFU-GMME
CMN	Correlación de Pearson	0,444(**)	0,160(**)	0,509(**)	0,532(**)
	Sig. (bilateral)	0,000	0,000	0,000	0,000
CD34 <sup>+</sup>	Correlación de Pearson		0,074	0,450(**)	0,641(**)
	Sig. (bilateral)		<b>0,092</b>	0,000	0,000
CFU-GM	Correlación de Pearson			0,659(**)	0,797(**)
	Sig. (bilateral)			0,000	0,000
BFU-E	Correlación de Pearson				0,797(**)
	Sig. (bilateral)				0,000

\*\* La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

\* La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

En las gráficas de regresión lineal de las células CD34<sup>+</sup> con las CMN, BFU-E y CFU-GMME, se observó un coeficiente de determinación (R-cuadrado):  $0,20 \leq R^2 \leq 0,40$ ; sin embargo el en la regresión lineal de las células CD34<sup>+</sup> con las CFU-GM el  $R^2$  fue de 0,01 (figura xx). Las CMN también mostraron un  $R$ -cuadrado  $\geq 0,20$  con las BFU-E y con las CFU-GMME, pero con las CFU-GM este coeficiente fue de 0,03. Entre los cultivos clonogénicos el coeficiente de determinación fue  $\geq 0,43$  (figura 17)

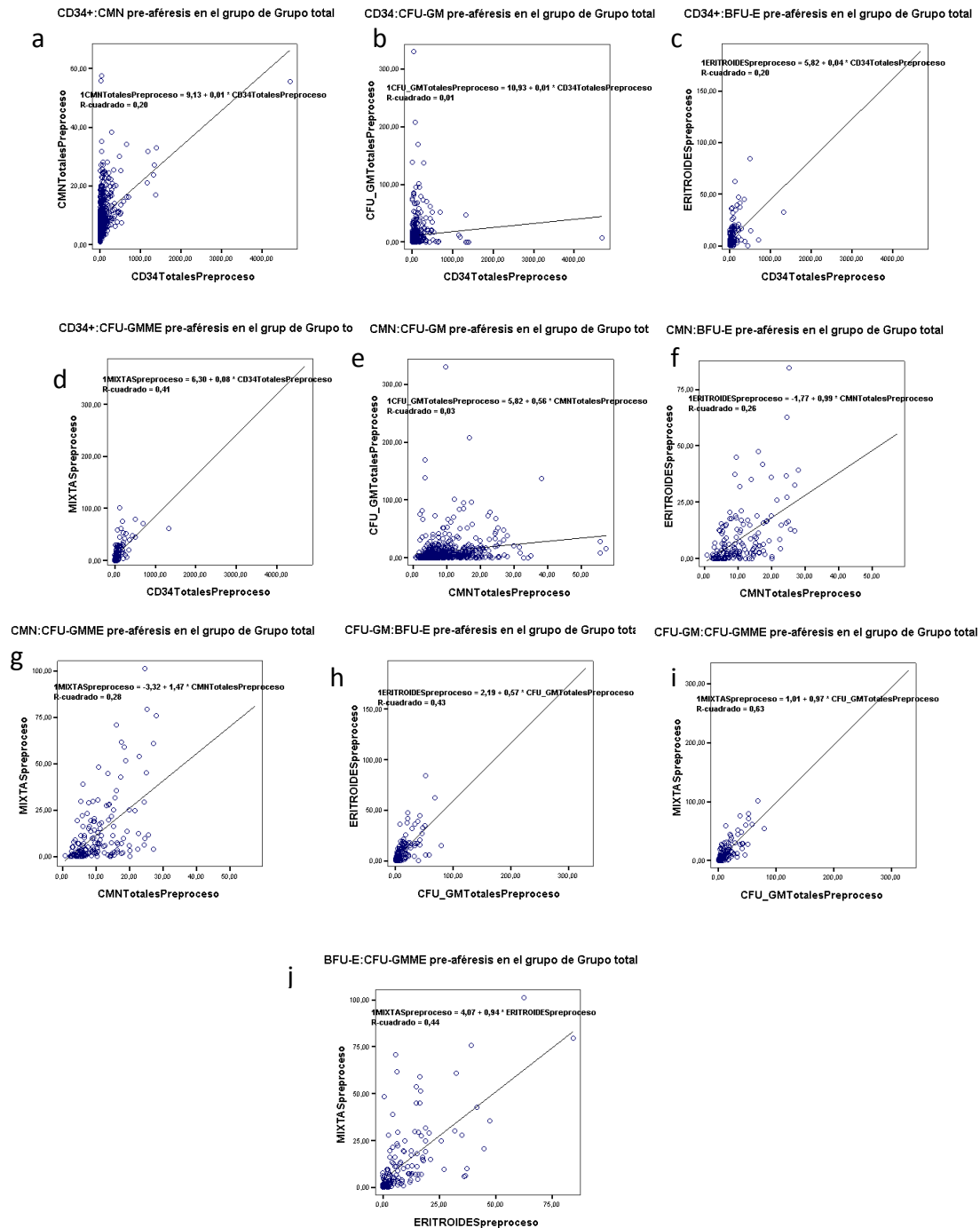


Figura 17: Gráficos de regresión lineal de las células **CD34<sup>+</sup>** con: (a) CMN ( $R^2=0,20$ ), (b) CFU-GM ( $R^2=0,01$ ), (c) BFU-E ( $R^2=0,020$ ) y (d)CFU-GMME ( $R^2=0,041$ ). **CMN** con: (e) (CFU-GM) ( $R^2=0,03$ ) , (f) BFU-E ( $R^2=0,26$ ) y (g) CFU-GMME ( $R^2=0,28$ ). **CFU-GM** con: (h) BFU-E ( $R^2=0,43$ ) e (i)DFU-GMME ( $R^2=0,63$ ). (j) **BFU-E** con CFU-GMME ( $R^2=0,44$ )

### 1.2.4 LINEAS DE TRATAMIENTOS RECIBIDAS

Agrupamos a los pacientes en función de las líneas de tratamiento recibidas, contando la radioterapia como una línea. Los separamos en: una única línea, dos líneas de tratamiento y tres o más.

Casi la mitad de los pacientes (104) habían recibido una única línea de tratamiento, mientras que 79 pacientes habían recibido dos y sólo 27 tres ó más. El 81% de los pacientes con LMA habían recibido solamente una línea de tratamiento previa, mientras que sólo el 22% de los EH fue sometido a aféresis tras una única línea (tabla 11).

**Tabla 11: Líneas de tratamiento recibidas antes de la primera aféresis en cada grupo diagnóstico, expresado en número y porcentaje**

PATOLOGIAS	1 LINEAS	2 LINEAS	3 LINEAS
MM <sup>a,b,c</sup>	40 (66,7%)	16 (26,7%)	4(6,6%)
LNH <sup>a,d,e</sup>	18 (36,7%)	21 (35,6%)	10 (20,4%)
EH <sup>b,f,g,h</sup>	4 (22,2%)	9 (50%)	5 (27,8%)
LLC <sup>c,i,j,k</sup>	3 (30%)	7 (70%)	0 (0%)
LMA <sup>f</sup>	13 (81,2%)	2 (12,5%)	1 (6,25%)
LLA <sup>d,g,i</sup>	6 (85,71%)	0 (0%)	1 (11,28%)
MAMA <sup>e,h,j</sup>	28 (71,8%)	6 (15,38%)	5 (12,82%)
LMC <sup>k</sup>	4 (66,6%)	2 (33,4%)	0 (0%)
OTROS	2 (40%)	2 (40%)	1 (20%)
<b>TOTAL</b>	<b>104 (49,5%)</b>	<b>79 (37,6%)</b>	<b>27 (12,9%)</b>

NOTA: De 6 pacientes (2 LNH y 4 ca. de mama) no teníamos datos completos

#### Significación estadística:

a: MM vs LNH (p= 0,010)	g: EH vs LLA (p= 0,011)
b: MM vs EH (p=0,001)	h: EH vs ca. mama (p= 0,001)
c: MM vs LLC (p= 0,010)	i ;LLC vs LLA (p= 0,012)
d: LNH vs LLA (p= 0,040)	j; LLC vs ca. mama (p= 0,001)
e: LNH vs ca mama (p= 0,004)	k: LLA vs LMC (p= 0,008)
f: EH vs LAM (p = 0,013)	

### 1.2.5 SITUACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE BASE PREVIA A LA AFÉRESIS

Para la evaluación de la situación de la enfermedad de base previa a la aféresis, los criterios de respuesta se basaron en las guías internacionales para cada patología separando tres tipos de respuesta: respuesta completa, respuesta parcial o progresión.

Observamos que 116 pacientes (algo más de la mitad), fueron sometidos a aféresis en remisión completa, mientras que 89 pacientes estaban en respuesta parcial y 11 en progresión (tabla 12). El 95% de los pacientes con cáncer de mama tenían una respuesta completa, seguido de LNH (66,6%). De los 60 pacientes con MM tan solo 3 pacientes estaban en RC, aunque el 90% se encontraban en respuesta parcial. Únicamente 11 de los 216 pacientes estaban en progresión en el momento de la recolecta (tabla 12).

**Tabla 12: Respuesta clínica de los pacientes previa a la recogida de progenitores hematopoyéticos.**

PATOLOGIAS	SITUACIÓN CLÍNICA		
	RESPUESTA COMPLETA	RESPUESTA PARCIAL	PROGRESION
MM (n=60)*	3	54	3
LNH (n= 51)**	34	13	4
EH (n=18)***	9	8	1
LLC (n= 10)****	4	6	0
LMA (n= 16)#	11	5	0
LLA (n= 7)##	6	0	1
MAMA (n= 43)###	41	2	0
LMC (n= 6)####	6	0	0
OTROS (n= 5)	2	1	2
<b>TOTAL (n=216 )</b>	<b>116</b>	<b>89</b>	<b>11</b>

**Significación estadística:**

\* MM frente a: LNH, EH, LMA, LLA, mama, LMC y otros (p< 0,001).

\*\* LNH frente a: LLC, mama, LMC y otros (p< 0,003)

\*\*\* EH frente a: LMA, mama, LMC y otros (p< 0,04), .

\*\*\*\* LLC frente a: LMA, LLA, ca. mama, LMC y otros (p< 0,010).

# LMA frente a: LMC (p= 0,003) y otros (p< 0,004).

## LLA frente a: : MM y LLC (p< 0,005).

### Mama frente a: LMC y otros (p< 0,003).

#### LMC frente a otros (p= 0,04).

**1.2.6 ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN UTILIZADO**

La movilización más frecuente en nuestra serie fue la combinación de ciclofosfamida + G-CSF (63,9%), seguida de quimioterapia + G-CSF. La movilización con G-CSF como único agente movilizador, se empleó mayoritariamente en los pacintes con LMC y con con Enfermedad de Hodgkin (tabla13).

**Tabla 13: Pacientes y aféresis en función a la movilización recibida.**

MOVILIZACIÓN	MOVILIZACIÓN			
	CICLOFOSFAMIDA + G-CSF	QUIMIOTERAPIA + G-CSF	G-CSF	NADA
MM (n=60) <sup>a,b,c,d</sup>	49 (81,7%)	4 (8,2%)	7 (11,7%)	0
LNH (n=51) <sup>e,f</sup>	33 (64,7%)	5 (12,8%)	13 (25,5%)	0
EH (n=18) <sup>g,h</sup>	9 (50%)	2 (11,1%)	7 (38,9%)	0
LLC (n=10) <sup>i</sup>	9 (90%)	0	1 (10%)	0
LMA (n=16) <sup>j</sup>	9 (56,3%)	5 (31,2%)	2 (12,5%)	0
LLA (n=7) <sup>k</sup>	4 (57,1%)	3 (42,9%)	0	0
MAMA (n=43) <sup>l</sup>	22 (51,2%)	16 (37,2%)	5 (11,6%)	0
LMC (n=6) <sup>m</sup>	0	0	4 (66,7%)	2 (33,3%)
OTROS (n= 5)	4 (80%)	0	1 (20%)	0
<b>TOTAL (n=216 )</b>	<b>138 (63,9%)</b>	<b>36 (16,7%)</b>	<b>40 (18,5%)</b>	<b>2 (0,9%)</b>

**Significación estadística:**

a: MM vs EH (p=0,021)	h: EH vs LMC (p= 0,015)
b: MM vs LLA p=0,022)	i: LLC vs LMC (p= 0,002)
c: MM vs ca. mama (p=0,001)	j: LMA vs LMC (p= 0,001)
d: MM vs LMC (p< 0,001)	k: LLA vs LMC (p= 0,005)
e: LNH vs ca mama (p= 0,012)	l: ca. mama vs LMC (p< 0,001)
f: LHN vs LMC (p<0,001)	m: LMC vs otros (p= 0,036)
g: EH vs ca. mama (p=0,027)	

### 1.2.7 PACIENTES CON MÁS DE UNA MOVILIZACIÓN

En 25 pacientes (11,6%) fue necesario hacer más de una movilización, diez tenían un LNH, seis un MM, cuatro una EH, tres una LMA, una paciente un cáncer de mama y un paciente un carcinoma de testículo (figura 18). Se hicieron dos movilizaciones a 24 pacientes y a un paciente con carcinoma testicular se le realizaron tres movilizaciones .

Dos de los pacientes estaban en progresión, 12 en RP y 11 en RC, lo que supone que se le realizó una segunda movilización al 18% de los pacientes en progresión, al 13% de los que estaban en RP y al 9,5% de los que estaban en RC. Seis pacientes habían recibido tres o más líneas de tratamiento, nueve dos líneas y 10 una línea, es decir necesitaron más de una movilización el 22% de los pacientes tratados con tres o más líneas, el 13% de los tratados con dos líneas y el 9% de los tratados con una sola línea figura 18.

## RESULTADOS

En 12 pacientes Las células CD34<sup>+</sup> circulantes aumentaron tras la segunda movilización (mediana: 3,9 CD34<sup>+</sup>/μL (2,0-29,8 CD34<sup>+</sup>/μL)) respecto a la primera (mediana: 1,4 CD34<sup>+</sup>/μL (0-2,4 CD34<sup>+</sup>/μL)). Sin embargo, en los otros 13 pacientes disminuyeron tras la segunda movilización (mediana: 0,6 CD34<sup>+</sup>/μL (0-5,2 CD34<sup>+</sup>/μL)) respecto a la primera (mediana: 3,4 CD34<sup>+</sup>/μL (1,4-27,1 CD34<sup>+</sup>/μL))

En 15 de estos pacientes se realizó el TPH mientras que en los otros 10 no se llegó a realizar. En cuatro de los pacientes que no se trasplantaron se obtuvieron al menos 2x10<sup>6</sup>células CD34<sup>+</sup>/kg mientras que en los restantes no se alcanzó esta cifra.

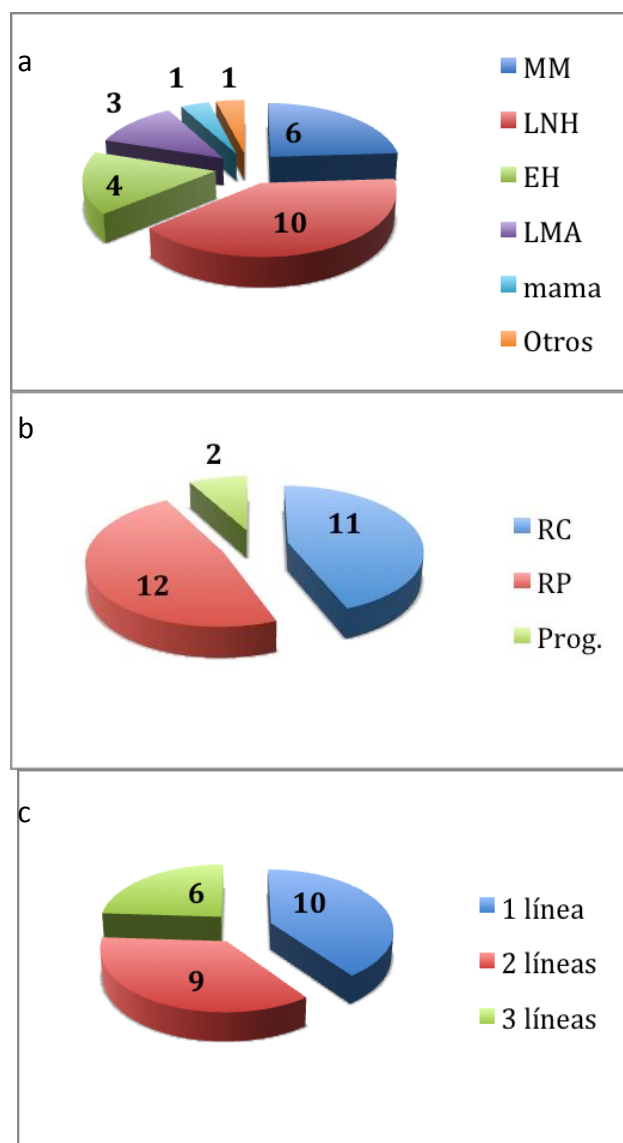


Figura 18: Distribución de pacientes con más de una movilización en función a la patología de base (a), situación clínica (b) y líneas de tratamiento recibidas (c).

## 2 AFÉRESIS

Se realizaron 531 aféresis a los 216 pacientes, una mediana de 2,5 (1-16) aféresis por paciente. No encontramos diferencias significativas al comparar los diferentes grupos diagnósticos (tabla 14) .

**Tabla 14: Aféresis realizadas a cada grupo diagnóstico (número y %) y número de aféresis por paciente (mediana y rango) expresado , tanto en número absoluto como en tanto por ciento.**

DIAGNÓSTICOS (nº pacientes)	AFÉRESIS N(%)	Aféresis/paciente Mediana (rango)
MM (n=60)	150 (29%)	2 (1-7)
LNH (n=51)	136 (26%)	2 (1-16)
EH (n=18)	48 (9%)	2 (1-9)
LLC (n=10)	23 (4 %)	2 (1-4)
LMA (n=16)	43 (8%)	2 (1-5)
LLA (n=7)	12 (2%)	2 (1-4)
MAMA (n=43)	87 (17%)	2 (1-7)
LMC (n=6)	12 (2%)	2 (1-4)
OTROS (n=5)	20 (4%)	2,5 (1-6)
<b>TOTAL</b>	<b>531 (100%)</b>	<b>2,5 (1-16)</b>

La mayoría de las aféresis (49,5%) se sometieron a aféresis tras la 1ª línea de tratamiento, el 31,1% cuando habían recibido dos líneas, y el 19,4% tras recibir tres o más líneas de tratamiento (tabla 15).



**Tabla 15: Aféresis realizadas según el número de líneas de tratamiento recibidas, mediana de aféresis por paciente y rango**

PATOLOGIAS		1 LINEAS	2 LINEAS	3 LINEAS
MM	N	97	41	19
	Mediana (rango)	2 (1-7)	3 (3-7)	2 (1-4)
LNH	N	43	49	44
	Mediana (rango)	2 (1-16)	2 (1-8)	3 (1-8)
EH	N	8	22	18
	Mediana (rango)	1,5 (1-3)	2 (1-9)	3 (1-6)
LLC	N	5	18	0
	Mediana (rango)	1 (1-1)	2 (1-4)	
LMA	N	28	8	7
	Mediana (rango)	2 (1-5)	1,5 (1-5)	2 (2-2)
LLA	N	11	0	1
	Mediana (rango)	2,5 (2-4)		
MAMA	N	62	13	12
	Mediana (rango)	2 (1-4)	1 (1-7)	2 (1-4)
LMC	N	7	5	1
	Mediana (rango)	1 (1-4)	3 (2-4)	
OTROS	N	2	9	1
	Mediana (rango)	3,5 (1-6)	2 (2-2)	
TOTAL	N	263	165	103
	Mediana (rango)	2 (1-16)	2 (1-9)	3 (1-8)

En cuanto a la respuesta clínica de la enfermedad previa al proceso de recogida, su distribución se expone en la tabla 16.

Los pacientes con cáncer de mama se sometieron a aféresis en mejor situación clínica (84% estaban en respuesta completa), frente a los pacientes con mieloma múltiple que únicamente en un 5,3% se encontraban en RC. Otra patología que también se sometió a aféresis en buena situación fue la LMA (97,6%), LMC (100%).

Un 5,3% de los pacientes que se sometieron a aféresis se encontraban en progresión (la mayoría de ellos, un 40%, padecían un LNH).

**Tabla 16: Número de aféresis realizadas en cada grupo diagnóstico de acuerdo a la respuesta clínica previa a la recogida de progenitores hematopoyéticos.**

PATOLOGIAS	SITUACION CLÍNICA			
		RESPUESTA COMPLETA	RESPUESTA PARCIAL	PROGRESION
MM	N	8	135	7
	Mediana (rango)	2,5 (2-3)	2 (1-7)	2 (1-8)
LNH	N	81	42	13
	Mediana (rango)	2(1-8)	3 (1-8)	1 (1-16)
EH	N	22	21	5
	Mediana (rango)	2 (1-16)	3 (1-6)	9 (9-9)
LLC	N	8	15	0
	Mediana (rango)	1 (1-1)	2 (1-4)	
LMA	N	41	2	0
	Mediana (rango)	2 (1-5)	4 (4-4)	
LLA	N	11	0	1
	Mediana (rango)	2,5 (2-4)		
MAMA	N	84	3	0
	Mediana (rango)	2 (1-7)		
LMC	N	12	0	0
	Mediana (rango)	3 (1-4)		
OTROS	N	10	8	2
	Mediana (rango)	1,5 (1-2)		1 (1-1)
TOTAL	N	277	226	28
	Mediana (rango)	2 (1-8)	2 (1-8)	3 (1-16)

Los pacientes fueron movilizados según protocolo del Servicio de Hematología del HCUVA con:

-Ciclofosfamida (Cy) más G-CSF: Cy 1,5 gr/m<sup>2</sup> el día -10 + G-CSF 10-20 µgr/Kg/día desde el día -4 hasta finalizar el proceso de recolección.

-Combinación de quimioterapia más G-CSF: G-CSF 10-20 µgr/Kg/día desde el día -4 hasta finalizar el proceso de recolección tras la quimioterapia.

-G-CSF como único movilizador: G-CSF 10-20 µgr/Kg/día desde el día -4 hasta finalizar el proceso de recolección.

En la mayoría de los pacientes la movilización utilizada fue CY más G-CSF (69%), excepto en los pacientes con LMC que se movilizaron únicamente con G-CSF y en el grupo de “otros” que se movilizaron en partes iguales con G-CSF o CY más G-CSF (tabla 17).

**Tabla 17: Número de aféresis realizadas en cada grupo diagnóstico de acuerdo a las movilizaciones**

PATOLOGIAS		MOVILIZACIÓN		
		Cy-G	Quimio-G	G-CSF
MM	N	108	20	22
	Mediana (rango)	2 (1-7)	3 (2-7)	2 (1-8)
LNH	N	89	15	32
	Mediana (rango)	1 (1-8)	2 (1-6)	1 (1-16)
EH	N	29	3	16
	Mediana (rango)	3 (1-9)	1 (1-2)	2 (2-3)
LLC	N	20	0	3
	Mediana (rango)	2 (1-4)		1 (1-1)
LMA	N	25	12	6
	Mediana (rango)	3 (1-5)	2 (1-2)	2(1-3)
LLA	N	7	5	0
	Mediana (rango)	2,5 (2-4)	2 (1-3)	
MAMA	N	43	29	15
	Mediana (rango)	2 (1-4)	2 (1-4)	2 (1-7)
LMC*	N	9	0	0
	Mediana (rango)	2 (1-4)		
OTROS	N	9	0	11
	Mediana (rango)	2 (1-3)		3 (1-4)
TOTAL	N	339	84	105
	Mediana (rango)	1 (1-2)	1 (1-7)	3 (3-3)

\*: En el grupo de LMC se realizaron tres aféresis sin movilización

## 2.1 GRUPO TOTAL DE PACIENTES

### 2.1.1 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES CIRCULANTES

Estudiamos la cantidad total de CMN, células CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E, y CFU-GMME previas a cada proceso de aféresis, así como las CMN, CD34<sup>+</sup> y CFU-GM tras haber procesado dos volemias (mitad de la aféresis). Se observó una disminución estadísticamente significativa de las células CD34<sup>+</sup> en sangre periférica tras procesar dos volemias. Por el contrario, las CFU-GM circulantes fueron significativamente mayores tras el procesamiento de las dos primeras volemias (tabla 18).

No se realizaron mediciones de BFU-E ni CFU-GMME en la mitad de la aféresis (tras dos volemias).

**Tabla 18: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo total de pacientes**

	CMNT ( $\times 10^9$ )	CD34 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	CFU-GM ( $\times 10^4$ )	BFU-E ( $\times 10^4$ )	CFU-GMME ( $\times 10^4$ )
Pre-aféresis	9,8 $\pm$ 2,8	95,4 $\pm$ 11,2	11,9 $\pm$ 1,5	8,8 $\pm$ 1,0	12,3 $\pm$ 1,4
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	8,5 $\pm$ 1,0	65,4 $\pm$ 6,8*	22,5 $\pm$ 3,1*	ND	ND

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis ( $p < 0,001$ ). ND: sin datos.

### 2.1.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

Calculamos la cantidad total de CMN, células CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E, y CFU-GMME en cada una de las bolsas de aféresis (1ª bolsa tras haber procesado las dos primeras volemias y 2ª tras las dos segundas volemias). En la segunda bolsa observamos un incremento de las CD34<sup>+</sup>, BFU-E, CFU-GMME y CMN que alcanzaba la significación estadística en CD34<sup>+</sup> y BFU-E, mientras que se produjo una disminución no significativa de las CFU-GM (tabla 19 y figura 19).

También calculamos el tanto por ciento de recuperación de células CMN, células CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E, y CFU-GMME tanto en la primera como en la segunda bolsa respecto a las cifras basales del paciente. La recuperación que obtuvimos en cada una de las bolsas fue tres veces superior a la cantidad de CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME circulantes. La recuperación fue mayor en la segunda bolsa que en la primera, aunque sin alcanzar significación estadística. El porcentaje de recuperación de CMN y CD34<sup>+</sup> fue de un 91% y un 98% respectivamente en la primera bolsa y significativamente más alto (117% y 122%) en la segunda ( $p < 0,001$ ). La recuperación total de las dos bolsas fue de 221% de las células CD34<sup>+</sup> y de las CMN totales pre-aféresis y de un 600% de las unidades formadoras de colonias (tabla 19).

## RESULTADOS

**Tabla 19: Grupo total: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN obtenidas en la 1<sup>a</sup> y 2<sup>a</sup> bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	71,4±7,7	<0,001	81,3±8,4	152,6±15,9
	Rec.(%)	98,9±4,2	<0,001	122,3±4,5	221,2±7,9
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	14,2±1,6	NS	12,7±1,1	26,9±2,9
	Rec.(%)	338,0±29,3	NS	376,4±43,5	654±92,0
BFU-E	(nx10 <sup>5</sup> )	9,7±1,0	0,026	11,9±1,1	21,7±1,9
	Rec.(%)	241,1±29,7	NS	336,4±55,6	580±75,2
CFU-GMME	(nx10 <sup>5</sup> )	19,0±2,2	NS	23,3±2,9	42,5±4,5
	Rec.(%)	328,8±46,0	<0,001	461,1±85,7	796±122,6
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	9,9±1,2	NS	10,9±0,4	20,8±1,3
	Rec.(%)	91,0±1,6	NS	117,7±3,9	221,8±7,9

Media± error estándar de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
Rec.(%): porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

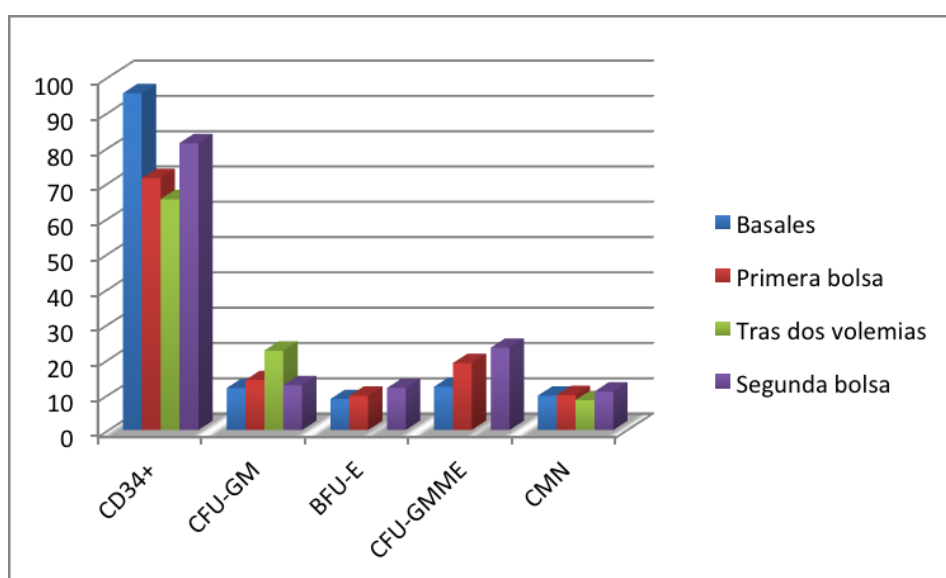


Figura 19: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemias (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda).

Igualmente analizamos las células CD34<sup>+</sup>x10<sup>6</sup>/Kg, que alcanzó la cifra de 1,3x10<sup>6</sup>/kg de células CD34<sup>+</sup> en el total del grupo, aunque en la primera bolsa se logró recuperar el 77% y en la segunda el 85%, con un total recuperado del 161% (tabla 20 y figura 20).

**Tabla 20: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

	CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)
Circulantes	1,3±0,1
Primera bolsa	1,0±0,1
Segunda bolsa	1,1±0,1
Total bolsas	2,1±0,2
<b>Media± error estándar de la media</b>	

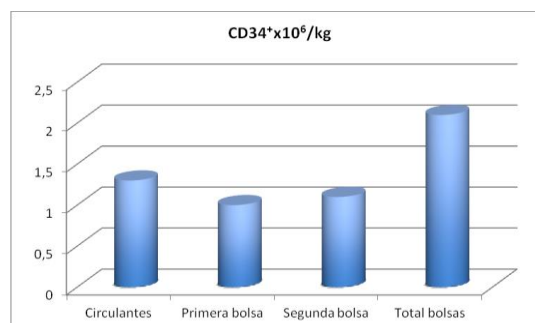


Figura 20: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.

### 2.1.3 REPERCUSIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS EN EL GRUPO TOTAL DE PACIENTES

Al estudiar la influencia del tratamiento movilizador en la eficacia de la AAV, observamos que las cifras más altas de CD34<sup>+</sup> circulantes totales pre-aféresis se encontraron en los movilizados con QMT+G-CSF con una cifra de 109,1x10<sup>6</sup>, mientras que los movilizados con Cy-G y G-CSF alcanzaron cifras de 88,1 x10<sup>6</sup> y 60,0 x10<sup>6</sup>, de CD34+ respectivamente, siendo estadísticamente significativa la comparación entre los grupos de QMT+G y G-CSF (p=0,030) .

Los datos absolutos pre-aféresis del recuento de CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E, CFU-GMME y CMN, en cada una de las aféresis se muestran en la tabla 21 y en la figura 21.

**Tabla 21: Comparación de progenitores hematopoyéticos totales circulantes pre-aféresis según el esquema de movilización en el grupo total.**

Movilización	Cy-G (n=329)	P*	QMT-G (n=90)	P**	G-CSF (n=112)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	88,1±9,3	NS	109,1±17,8	0,030	60,0±13,7	NS
CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	11,5±2,4	NS	13,4±2,6	NS	10,7±3,3	NS
CMN (x10 <sup>9</sup> )	9,5±0,4	NS	9,1±0,7	NS	13,1±0,7	<0,001
BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	9,3±1,3	NS	6,6±2,2	NS	8,1±1,8	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	13,8±1,8	NS	6,6±2,5	NS	6,6±2,5	NS

**VALOR (media +/- error estándar de la media)**

P\*: diferencia estadística entre CY-G y QMT-G. P\*\* : diferencia estadística entre QMT-G y G-CSF. P\*\*\* : diferencia estadística entre Cy-G y G-CSF.

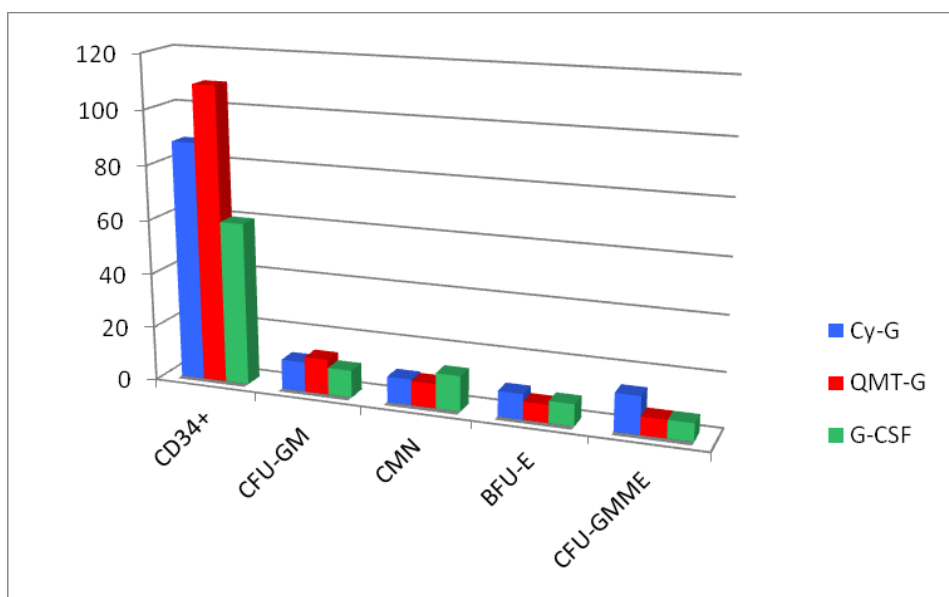


Figura 21: Progenitores hematopoyéticos basales según la movilización realizada en el grupo total.

Las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN obtenidas tanto en la primera bolsa (tras dos volemias, a mitad de la aféresis), como en la segunda bolsa (tras 4 volemias) se muestran en la tabla 22 y en la figura figura 22.

**Tabla 22: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según el esquema de movilización y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo total.**

Movilización		Cy-G (n=328)	P*	QMT-G (n=98)	P**	G-CSF (n=105)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	68,2±6,2	<0,001	78,5±11,2	0,003	40,2±6,2	0,002
	Rec.(%)	100,5±5,0	NS	110,8±14,9	NS	84,2±4,9	0,021
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	12,6±1,4	<0,001	4,4±1,2	NS	6,6±1,3	0,002
	Rec.(%)	696,5±211,9	NS	425,8±97,1	NS	267,1±68,4	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	10,5±1,3	NS	5,5±1,7	NS	8,5±1,7	NS
	Rec.(%)	240,6±31,4	NS	387,4±198,1	NS	181,3±54,1	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		20,8±2,5	<0,001	7,4±2,8	NS	17,0±5,7	NS
	Rec.(%)	324,1±42,8	NS	636,9±390,4	NS	221,6±58,9	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		8,1±0,3	NS	7,5±0,6	NS	16,9±5,6	NS
	Rec.(%)	91,5±2,2	NS	88,5±3,7	NS	155,5±63,3	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	76,6±6,1	NS	95,1±12,6	<0,001	43,8±6,9	<0,001
	Rec.(%)	127,2±5,7	NS	134,8±14,9	0,018	96,9±5,5	0,004
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	12,4±1,7	<0,001	4,7±0,9	NS	7,0±1,4	NS
	Rec.(%)	409,1±2,0	NS	642,2±210,3	NS	296,7±59,9	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	12,7±1,4	<0,001	4,7±1,0	NS	11,9±2,5	NS
	Rec.(%)	337,9±64,5	NS	282,8±129,7	NS	353,2±148,8	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		26,0±0,7	<0,001	7,8±1,3	NS	19,9±5,1	NS
	Rec.(%)	479,3±114,9	NS	595,5±239,1	NS	344,8±86,8	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		10,6±0,6	NS	8,8±0,7	<0,001	13,4±0,6	0,008
	Rec.(%)	122,4±6,1	NS	108,8±4,5	NS	111,8±3,8	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Recup. %, porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación C Cy-G con GCS-F

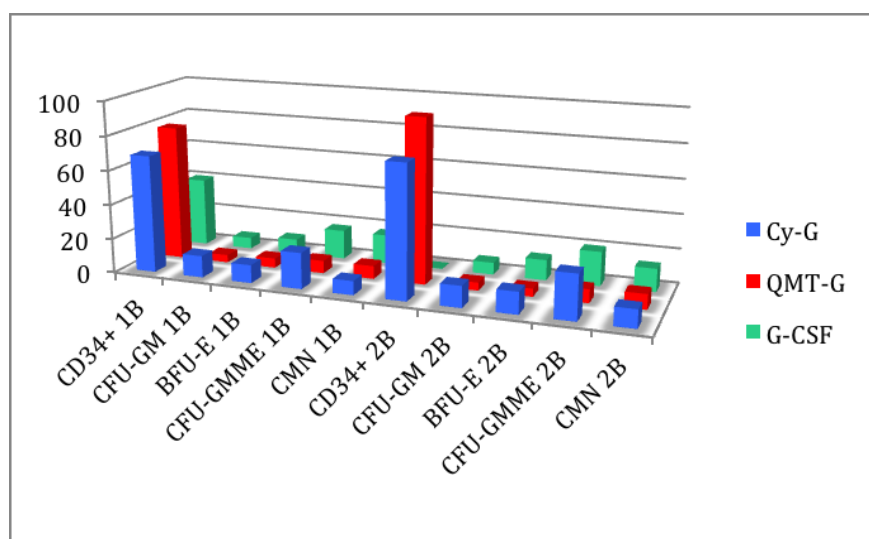


Figura 22: Cifra de progenitores hematopoyéticos recogidos en las aféresis dividido según la movilización realizada en el grupo total.



## RESULTADOS

En los movilizados con G-CSF en monoterapia, se recolectaron menor número de células CD34<sup>+</sup> con significación estadística con respecto al resto de grupos, mientras que en los movilizados con QMT-G fueron los que más CD34<sup>+</sup> se recogieron.

En cuanto a la recolección del resto de progenitores, la de CFU-GM fue mayor en el grupo de Cy-G con diferencia significativa con respecto a los otros, la de BFU-E y CFU-GMME también fue mayor en el mismo grupo con  $p < 0,001$  frente a QMT-G, y la de CMN fue mayor en el grupo movilizado con G-CSF ( $p = 0,017$ ) frente a Cy-G.

En las recuperaciones no encontramos diferencias significativas en ninguno de los grupos, recuperándose más del 100% de la celularidad en todos los grupos de movilización y tipos progenitores excepto en las CD34<sup>+</sup> en el grupo movilizado con G-CSF, que fue del 84% en la primera bolsa y del 97% en la segunda .

Las CD34<sup>+</sup>/kg circulantes pre-aféresis, así como las obtenidas en cada aféresis se muestran en la tabla 23 y figura 23, observándose, como era de esperar, que las cifras mas altas correspondían a las aféresis realizadas tras la movilización con QMT-G.

**Tabla 23: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la movilización en le grupo total.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	Cy-G (n=328)	QMT-G (n=98)	G-CSF (n=105)
<b>Circulantes</b>	1,2±0,1	1,6±0,2	0,8±0,1
<b>Primera bolsa</b>	0,9±0,1	1,1±0,1	0,6±0,1
<b>Segunda bolsa</b>	1,0±0,1	1,4±0,5	0,6±0,1
<b>Total bolsas</b>	<b>1,9±0,1</b>	<b>2,5±0,3</b>	<b>1,2±0,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

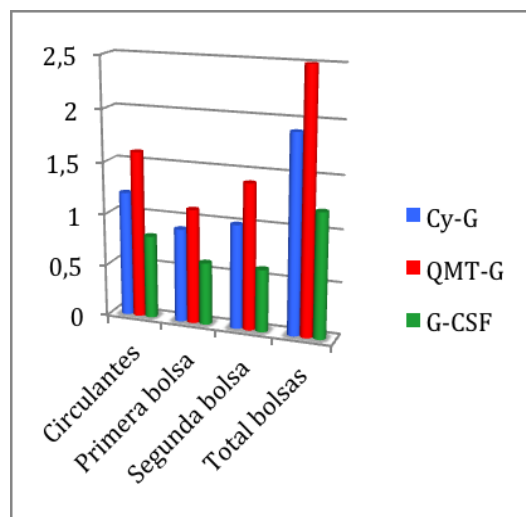


Figura 23: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total.

### 2.1.4 REPERCUSIÓN DE LA SITUACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En este apartado estudiamos la incidencia del tipo de respuesta clínica de la enfermedad en la eficacia de las aféresis

Calculamos los datos absolutos de CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-GM, colonias mixtas y CMN circulantes inmediatamente antes de realizar cada una de las aféresis del recuento (tabla 24 y figura 24).

Curiosamente, la mayor cantidad de CD34<sup>+</sup>, BFU-E y CFU-GMME basales se observaron en las aféresis realizadas en progresión, aunque sin alcanzar la significación estadística probablemente porque el número de aféresis que se realizaron en progresión fue muy pequeño en comparación con RC y RP, y porque hubo mayor número de movilizaciones con QMT+G en los pacientes en progresión. Únicamente hubo diferencias estadísticamente significativas, al comparar las CFU-GM entre RP y progresión a favor de los primeros (tabla 24 y figura 24).

**Tabla 24: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en el grupo global.**

Situación clínica	RC (n=227)	P*	RP (n=226)	P**	PROG. (n=28)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	93,1±10,2	NS	71,8±8,6	NS	110,5±48,8	NS
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	12,2±1,6	NS	12,0±1,8	0,038	6,6±2,0	0,045
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	10,3±2,5	NS	8,6±1,1	NS	10,9±6,4	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	14,4±3,3	NS	11,8±1,5	NS	14,9±12,2	NS
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	9,9±0,4	NS	10,5±0,5	NS	10,7±0,6	NS
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media) x10<sup>5</sup></b>						
RC: respuesta completa. RP: respuesta parcial. PROG: progresión. P*: diferencia estadística entre RC y RP. P**: diferencia estadística entre RP y PROG. P***: diferencia estadística entre RC y PROG						

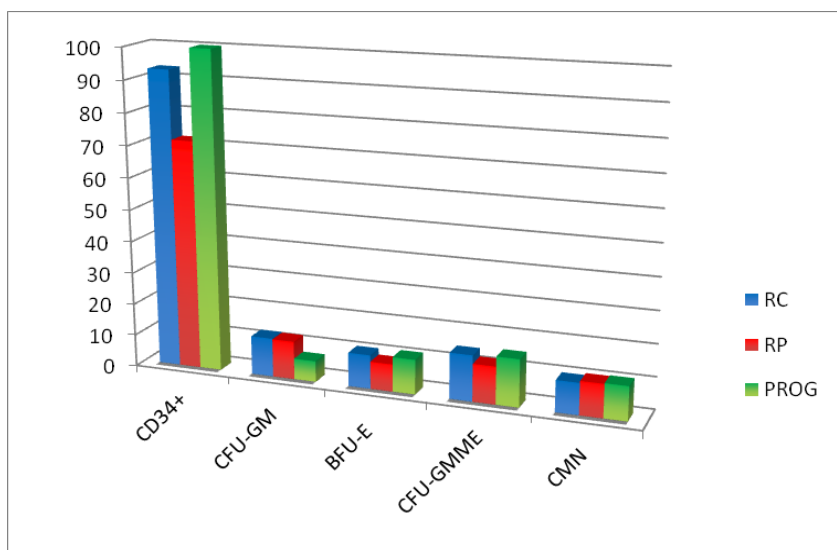


Figura 24: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en el grupo global.

En la tabla 25 y en la figura 25 exponemos los datos obtenidos de CD34+, CFUGM, BFU-GM, mixtas y CMN obtenidas tanto en la primera bolsa (tras dos volemias a mitad de la aféresis como en la segunda bolsa (tras 4 volemias), en valores absolutos, así como la recuperación celular.

Como ya ocurría en los basales, en el grupo de aféresis realizadas a pacientes en progresión se recogieron más CD34<sup>+</sup> respecto del resto, aunque sin llegar a alcanzar significación estadística.

En el resto, la recolección fue muy similar y sólo en las CFU-GM de la primera bolsa hubo una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo RC y RP.

La recuperación celular no mostró diferencias estadísticamente significativas, excepto en las BFU-E en la segunda bolsa, en todos los grupos y de todas las células, recuperando el 100% en las CD34<sup>+</sup>.

Tabla 25: Situación clínica en el momento de la aféresis : Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos, en la primera y segunda bolsa, y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo total.

Movilización			RC (n=227)	P*	QMT-G (n=226)	P**	G-CSF (n=28)	P***	
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	63,8±5,6	NS	59,6±6,5	NS	96,1±35,0	NS	
		Rec. (%)	92,6±5,5	NS	102,5±7,0	NS	122,7±16,7	NS	
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	16,6±2,0 <sup>a</sup>	0,009	9,6±1,7 <sup>a</sup>	NS	14,6±4,1	NS	
		Rec. (%)	315,0±30,6	NS	270,1±92,1	NS	145,0±70,5	NS	
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	11,5±1,8	NS	9,5±1,3	NS	6,6±4,7	NS	
		Rec. (%)	317,8±67,5	NS	203,5±32,8	NS	56,2±32,9	NS	
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	16,6±3,2	NS	21,3±3,1	NS	14,4±9,4	NS	
		Rec. (%)	272,1±74,9	NS	345,8±60,9	NS	170,6±115,9	NS	
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	8,1±0,3	NS	11,9±2,8	NS	10,4±5,8	NS	
		Rec. (%)	89,9±2,7	NS	121,1±30,8	NS	103,1±6,2	NS	
	2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	74,7±6,4	NS	67,4±6,5	NS	105,5±36,8	NS
			Rec. (%)	116,8±6,2	NS	124,3±7,1	NS	160,1±24,7	NS
CFU-GM		(nx10 <sup>4</sup> )	15,2±2,2	NS	10,0±2,3	NS	6,1±1,7	NS	
		Rec. (%)	382,6±41,4	NS	477,9±108,7	NS	278,6±104,6	NS	
BFU-E		(nx10 <sup>4</sup> )	15,4±2,4	NS	11,3±1,4	NS	5,8±3,6	NS	
		Rec. (%)	467,1±132,9	0,036	243,5±35,4 <sup>a</sup>	NS	90,4±39,1	NS	
CFU-GMME		(nx10 <sup>4</sup> )	25,5±7,1	NS	24,1±3,2	NS	16,8±3,2	NS	
		Rec. (%)	517,4±251,6	NS	446,7±69,3	NS	173,0±104,4	NS	
CMN		(nx10 <sup>4</sup> )	10,2±0,5	NS	11,5±0,8	NS	12,6±7,2	NS	
		Rec. (%)	119,0±6,7	NS	115,9±4,9	NS	124,6±7,7	NS	

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación C Cy-G con GCS-F

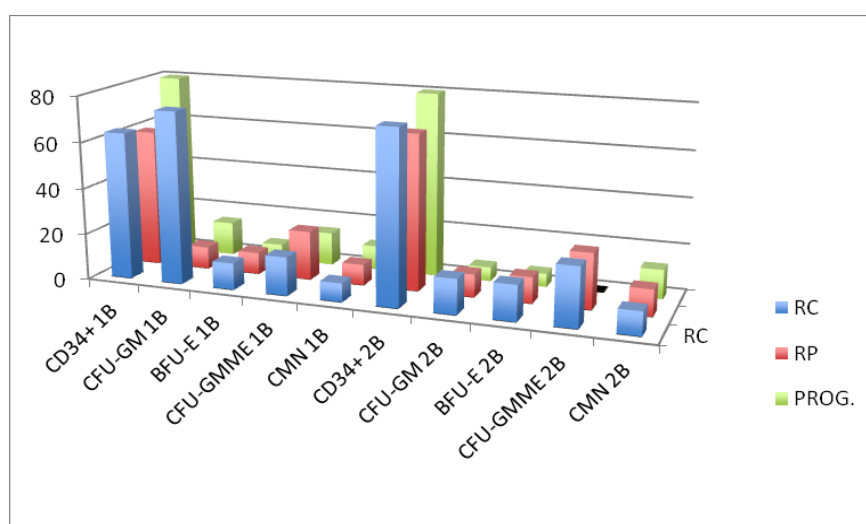


Figura 25: Progenitores hematopoyéticos en la primera y segunda bolsa según la situación clínica del paciente en el grupo global.

Las media de células CD34<sup>+</sup> /kg circulantes previas a cada aféresis fue de 1,3 CD34<sup>+</sup> /kg en los pacientes en RC, 0,9 CD34<sup>+</sup> /kg en los que estaban en RP y 1,5 CD34<sup>+</sup> /kg en aquellos que se encontraban en progresión. Al completar la aféresis (tras procesar las cuatro volemias) obtuvimos una media de 2x10<sup>6</sup> /Kg de células CD34<sup>+</sup> (154% de las basales) en las aféresis realizadas en RC, de 1,7 x10<sup>6</sup> /Kg (189% de las basales) en la aféresis hechas en RP y de 2,6 x10<sup>6</sup> /Kg (173%) en aquellas realizadas en progresión (tabla 26, figura 26).

**Tabla 26: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total de pacientes.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	RC (n=227)	RP (n=226)	PROG. (n=28)
<b>Circulantes</b>	1,3±0,1	0,9±0,1	1,5±0,6
<b>Primera bolsa</b>	0,9±0,0	0,8±0,0	1,2±0,4
<b>Segunda bolsa</b>	1,1±0,1	0,9±0,1	1,4±0,4
<b>Total bolsas</b>	<b>2,0±0,1</b>	<b>1,7±0,1</b>	<b>2,6±0,8</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

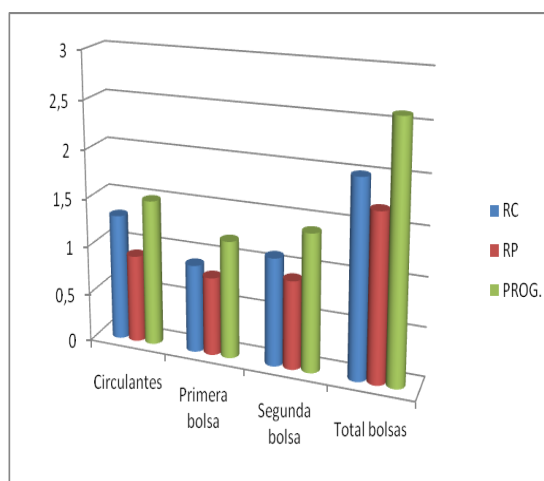


Figura 26: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes pre-aféresis, en cada una de las bolsas y en ambas bolsas en el grupo total

### 2.1.5 REPERCUSIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

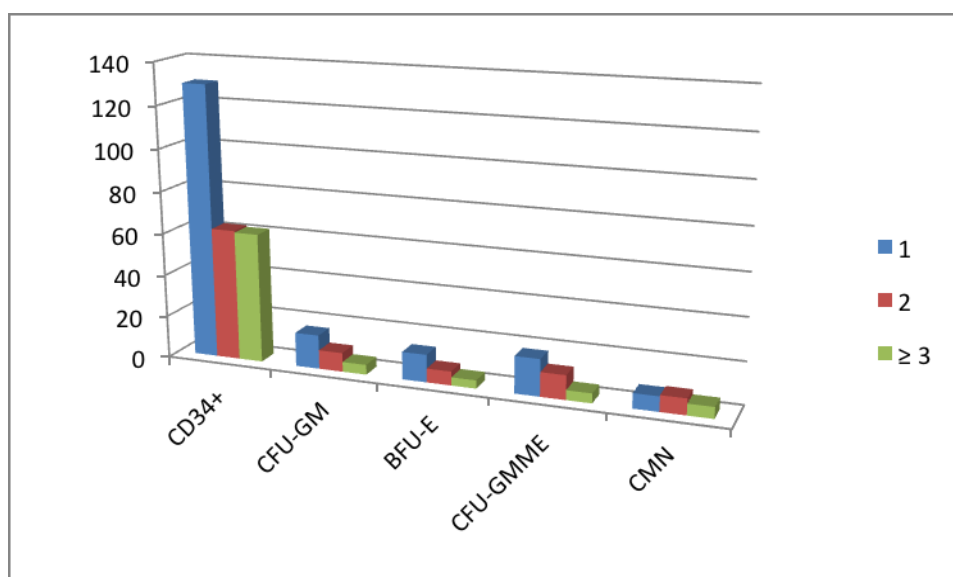
Los datos de las células circulantes totales en las aféresis realizadas en las distintas líneas de tratamiento previas recibidas se muestran en la tabla 27 y en la figura 27.

**Tabla 27: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo total.**

Nº líneas de tratamiento	1 (n=263)	P*	2 (n=164)	P**	≥3 (n=103)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	129,6±20,9	0,005	62,1±9,9		61,4±9,9	0,005
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	16,1±2,1	<0,001	9,0±1,2	<0,001	4,7±0,6	<0,001
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	13,1±1,9	<0,001	6,6±1,0		3,9±1,1	<0,001
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	17,5±2,5		11,5±2,1	0,005	4,6±1,8	<0,001
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	7,1±0,4		7,7±0,7		5,4±0,6	

**VALOR (media +/- desviación estándar)**

\* : comparación 1 línea con 2. P\*\* : comparación 2 líneas con 3.  
P\*\*\* : comparación 1 línea con ≥3



**Figura 27: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo total.**

Como era de esperar, encontramos diferencias en cuanto a los PHSP según los pacientes hayan recibido uno o más líneas de tratamiento.

Así, en todos los PHSP, las cifras más altas corresponden al grupo de una única línea de tratamiento previa a la aféresis, excepto en lo que se refiere a las CMN que son un poco mayores en los que han recibido dos líneas (7,1x10<sup>9</sup> versus 7,7x10<sup>9</sup>), pero sin alcanzar significación estadística.

Al comparar las CD34<sup>+</sup>, existe diferencia significativa de las mismas tanto al comparar una con dos líneas como con tres o más y ya no las encontramos si comparamos dos con más de dos. Lo mismo ocurre en las CFU-GM y en las BFU-E, que los tres consiguen diferencias estadísticamente significativas.

Respecto a la recogida de células en las aféresis, al igual que ocurre en las células circulantes, en los pacientes menos tratados la celularidad es mayor en todas las series y en ambas bolsas excepto en las CMN. Las CD34<sup>+</sup> siguen siendo mayores en los tratados únicamente con una línea con respecto a dos o más y con significación estadística, lo mismo ocurre en las comparaciones de CFU-GM (tabla 28 y figura 28).

Al comparar la recuperación celular de las CD34<sup>+</sup> no encontramos diferencias significativas entre los grupos, la recuperación fue cercana (en el grupo de una línea) o mayor del 100% (en los otros dos grupos) en la primera bolsa y mayor aún en la segunda.

En cuanto al resto de PH, la recuperación también fue muy buena en todas ellas llegando a más de dos veces en todas y hasta ocho veces las basales en las CFU-GMME de los más tratados (tabla 28).

**Tabla 28: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según las líneas de tratamiento previas y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo total.**

Líneas (N)		1 (n=263)	P*	2 (n=164)	P**	3 (n=103)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	91,1±14,1	0,010	50,89±6,99	NS	48,5±9,8	NS
	Rec.(%)	91,2±4,2	NS	106,2±10,5	NS	110,3±9,2	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	12,03±1,7	0,002	7,2±1,1	NS	10,0±1,7	<0,001
	Rec.(%)	352,5±86,7	NS	233,1±27,4	NS	199,2±31,1	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	12,5±1,7	NS	8,0±1,6	NS	7,0±1,5	NS
	Rec.(%)	234,2±43,0	NS	183,4±35,4	NS	326,8±79,6	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		23,9±3,8	NS	20,3±4,5	0,002	9,9±2,2	0,039
	Rec.(%)	326,5±79,1	NS	223,9±42,9	NS	289,1±52,7	0,010
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		8,8±0,3	NS	9,1±0,5	NS	14,6±6,6	0,016
	Rec.(%)	87,5±1,9	NS	90,6±2,2	0,022	167,3±66,9	0,005
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	106,6±15,6	0,002	54,6±6,7	NS	51,6±9,0	NS
	Rec.(%)	118,8±6,4	NS	120,3±6,8	NS	137,2±13,5	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	12,6±2,0	0,001	6,2±1,0	0,030	9,6±2,1	<0,001
	Rec.(%)	533,7±99,1	0,006	301,4±50,0	NS	297,7±42,9	0,021
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	15,8±1,8	0,023	9,6±1,7	NS	7,8±2,1	NS
	Rec.(%)	357,2±88,0	NS	336,8±119,3	NS	290,8±52,4	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		33,8±5,4	0,001	14,5±2,3	NS	14,5±4,0	0,039
	Rec.(%)	390,8±65,0	NS	222,5±52,4	NS	827,3±294,8	0,007
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		10,8±0,4	NS	10,8±0,6	NS	11,7±1,8	0,041
	Rec.(%)	109,9±2,5	NS	111,7±3,2	<0,001	146,5±18,3	<0,001

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Recup. %, porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis P\* : comparación 1 línea con 2 líneas. P\*\* : comparación 2 líneas con 3 líneas. P\*\*\* : comparación 1 línea con 3 líneas.



## RESULTADOS

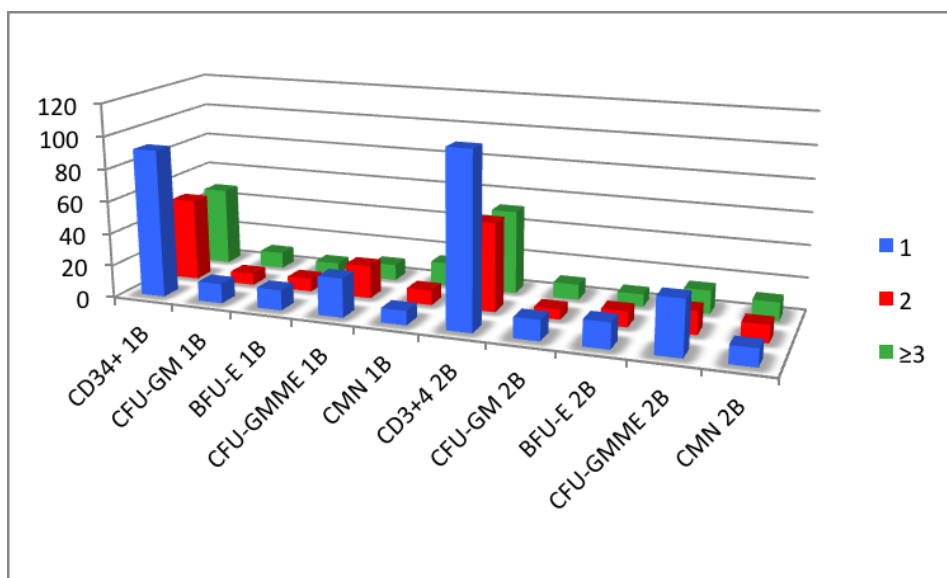


Figura 28: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN totales obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo total.

Las media calculada de células CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes fueron de  $1,7 \times 10^6/\text{kg}$  en los casos que habían recibido una línea de tratamiento previa y de 0,8 en los que habían recibido dos o más, obteniéndose, en las dos bolsas de la aféresis un total de  $2,7 \times 10^6 \text{CD34}^+/\text{kg}$  en el primer caso y de  $1,4 \times 10^6 \text{CD34}^+/\text{kg}$  en los que habían recibido dos o más líneas de tratamiento previas (tabla 29, figura 29).

**Tabla 29: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas.**

CD34 <sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ )	1 (n=263)	2 (n=164)	≥ 3 (n=103)
<b>Circulantes</b>	1,7±0,3	0,8±0,1	0,8±0,1
<b>Primera bolsa</b>	1,2±0,2	0,7±0,1	0,7±0,1
<b>Segunda bolsa</b>	1,4±0,2	0,7±0,1	0,7±0,1
<b>Total bolsas</b>	<b>2,7±0,4</b>	<b>1,4±0,2</b>	<b>1,4±0,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

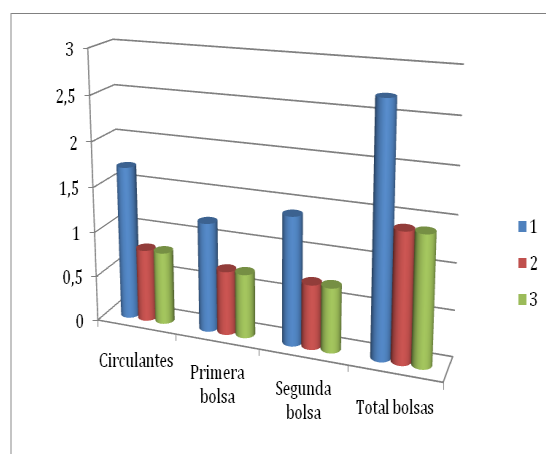


Figura 29: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en el grupo total.

## 2.2 MIELOMA MÚLTIPLE

Se realizaron 150 aféresis a 60 pacientes con mieloma múltiple, las características de edad, situación clínica y líneas de tratamiento recibidas están descritas en el apartado 1 de esta tesis (página 83). A continuación describimos los datos correspondientes a progenitores hematopoyéticos y aféresis.

### 2.2.1 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES CIRCULANTES

Calculamos la cantidad total de CMN, células CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E, y CFU-GMME circulantes antes de cada proceso de aféresis, así como las CMN, CD34<sup>+</sup> y CFU-GM tras haber procesado dos volemias (mitad de la aféresis). Encontramos que después de procesar las dos primeras volemias había una disminución de las células CD34<sup>+</sup> circulantes, que alcanzaba la significación estadística, mientras que las CMN y las CFU-GM aumentaban significativamente (tabla 30).

**Tabla 30: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de MM.**

	CMNT (x10 <sup>9</sup> )	CD34 <sup>+</sup> (x10 <sup>6</sup> )	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )
Pre-aféresis	4,9±0,5	101,5±11,2	9,1±2,8	12,5±1,8	16,5±2,2
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	7,5±0,3*	65,4±7,9*	21,5±451*	-	-

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)

### 2.2.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

El número de CMN y células CD34<sup>+</sup> fue significativamente mayor en la segunda bolsa (tabla 31 y figura 30).

Las recuperaciones globales (calculadas como porcentaje de las totales basales circulantes) fueron buenas, rondando y superando el 200% en todos los parámetros estudiados. La recuperación de CD34<sup>+</sup> en la primera bolsa fue del 100,4% y en la segunda

## RESULTADOS

del 134,4% (236,5% el total), con significación estadística. Observamos lo mismo con las CMN que se recuperaron significativamente más en la segunda bolsa (90,3% vs 108,5%), con una recuperación del 198,1% en total.

**Tabla 31: MM: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	77,0±8,6	0,001	89,1±0,1	159,7±16,8
	Rec.(%)	100,4±6,2	<0,001	134,4±11,0	236,5±16,0
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	18,2±2,4	NS	16,3±2,0	22,1±5,1
	Rec.(%)	378,3±60,8	NS	340,4±56,3	779,8±289,6
BFU-E	(nx10 <sup>5</sup> )	211,0±1,7	NS	14,0±1,8	26,1±3,1
	Rec.(%)	204,5±42,4	NS	222,0±34,7	428,7±66,6
CFU-GMME	(nx10 <sup>5</sup> )	25,1±3,6	NS	27,6±3,4	53,0±6,3
CFU-GMME	Rec.(%)	333,0±81,6	NS	361,8±62,7	649,8±137,6
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	9,2±0,4	<0,001	10,9±0,5	20,3±0,9
	Rec.(%)	90,3±2,3	<0,001	108,5±3,0	198,1±4,8

Media ± error estándar de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
Rec.(%): porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

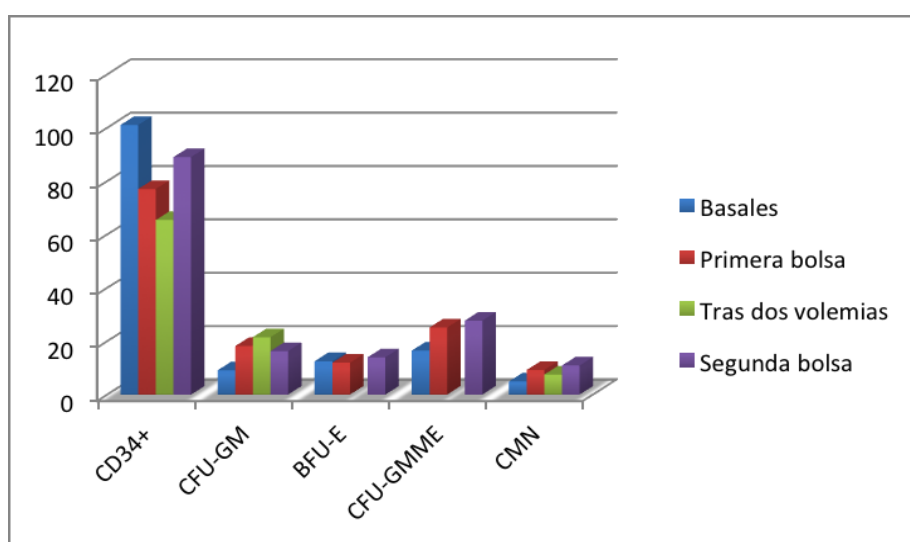


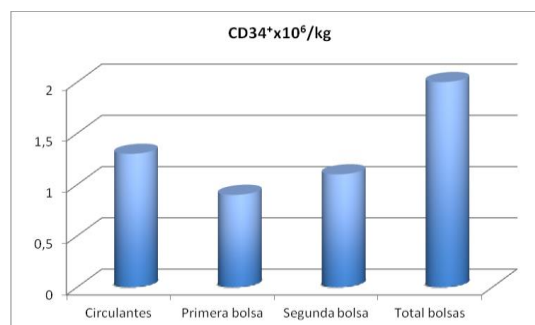
Figura 30: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente y en las bolsas de aféresis en el grupo de MM inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemias (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda).

### 2.2.3. DATOS DE LAS CD34<sup>+</sup>/KG CIRCULANTES Y EN CADA UNA DE LAS BOLSAS DE AFÉRESIS

La recuperación de CD34<sup>+</sup>/kg fue del 69% en la primera bolsa y del 85% en la segunda, obteniéndose una recuperación del 154% en total (tabla 32 y figura 31).

**Tabla 32: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total, en el grupo de MM.**

	CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)
Circulantes	1,3±0,1
Primera bolsa	0,9±0,1
Segunda bolsa	1,1±0,1
Total bolsas	2,0±0,2
<b>Media± error estándar de la media</b>	



**Figura 31: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo de MM.**

### 2.2.4 REPERCUSIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

Al comparar los niveles basales de PH en el grupo de MM, las cifras más altas de CD34<sup>+</sup> las presentaron los pacientes que fueron movilizados con Cy-G, mientras en los que se utilizó QMT-G los resultados fueron los más bajos. No obstante, en ninguno se llegó a diferencias estadísticamente significativas. En el resto de PH las diferencias ocurrieron en las CMN (a favor de G-CSF frente a los otros dos grupos) y CFU-GMME ante G-CSF (tabla 33 y figura 32).

**Tabla 33: Comparación de progenitores hematopoyéticos totales circulantes pre-aféresis según el esquema de movilización en MM.**

Movilización	Cy-G (n=108)	p*	QMT-G (n=20)	p**	G-CSF (n=22)	p***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	112,1±16,5	NS	56,0±13,4	NS	73,9±28,2	NS
CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	13,8±1,9	NS	12,3±3,9	NS	14,0±3,4	NS
CMN (x10 <sup>9</sup> )	10,8±0,6	0,030	8,8±0,6	0,002	14,3±1,7	NS
BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	14,7±2,5	NS	8,0±2,5	NS	8,7±2,5	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	20,6±2,9	0,021	8,0±3,9	NS	8,7±2,4	0,006

**VALOR (media +/- error estándar de la media) x10<sup>5</sup>**

P\* comparación CY-G con QMT-G. p\*\* comparación QMT-G con G-CSF. p\*\*\* comparación QMT-G con CY-G vs. G-CSF

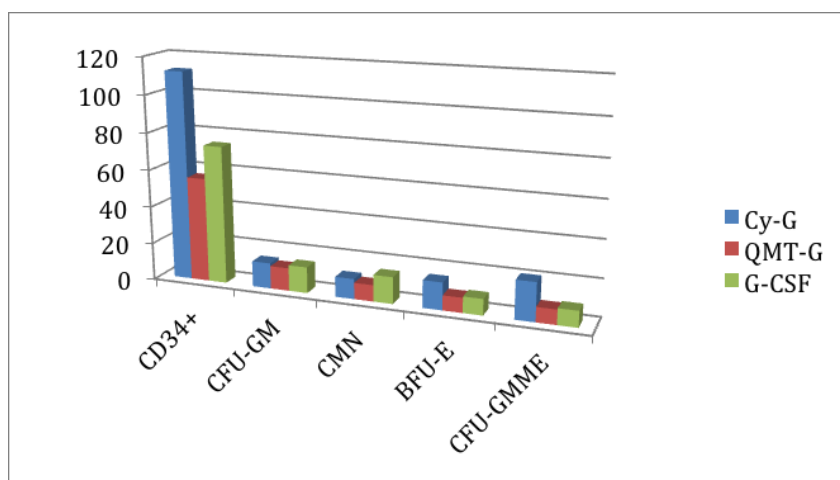


Figura 32: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos basales dividido según la movilización realizada en MM.

Estudiamos los PH obtenidos en ambas bolsas de aféresis y aquí no hubo diferencias entre los movilizados con Cy-G y QMT-G, aunque las cifras más altas de CD34<sup>+</sup> se vieron en el primer grupo.

Solamente hubo diferencias significativas en la recuperación de BFU-E en la primera mitad de la aféresis entre CY-G y G-CSF (196,8% y 93,1%, respectivamente).

Encontramos más CMN en el grupo de Cy en ambas bolsas, mientras que las BFU-E fue mayor en los movilizados con Cy-G en la segunda bolsa.

En lo que refiere a la recuperación, en los tres grupos se obtuvieron muy buenas recuperaciones de todos los PH con cifras superiores al 100% en las CD34+ en ambas bolsas y en los tres grupos (excepto en Cy-G de a primera bolsa, 91.4%) y en el resto, hasta más de seis veces en alguna de los PH como las CFU-GM de la segunda bolsa en Cy-G (tabla 34 y figura 33).

**Tabla 34: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según el esquema de movilización y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de MM.**

Movilización			Cy-G (n=108)	P*	QMT-G (n=20)	P**	G-CSF (n=22)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	83,1±8,2	NS	57,0±12,7	NS	49,8±13,7	NS
		Rec.(%)	93,5±5,5	NS	142,5±28,4	NS	91,4±9,6	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	10,8±2,5	NS	14,3±5,2	NS	6,9±5,9	NS
		Rec.(%)	368,9±193,8	NS	152,7±68,2	NS	108,1±62,0	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	14,6±2,4	NS	6,8±2,3	NS	6,2±1,7	NS
		Rec.(%)	196,8±34,8	NS	483,6±357,1	NS	93,1±23,7	0,017
CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	30,3±4,7	NS	10,0±4,6	NS	16,1±5,8	NS	
	Rec.(%)	269,7±46,5	NS	913,3±666,3	NS	234,7±96,1	NS	
CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	8,6±0,4	NS	9,5±1,5	NS	12,7±1,1	<0,001	
	Rec.(%)	86,8±2,7	0,012	103,3±5,7	NS	2,3±6,3	NS	
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	99,6±11,8	NS	51,9±12,6	NS	56,1±12,6	NS
		Rec.(%)	134,7±11,6	NS	164,7±40,5	NS	101,6±9,3	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	12,8±4,3	NS	7,9±3,5	NS	7,6±2,3	NS
		Rec.(%)	689,5±213,7	0,022	166,1±70,8	NS	212,9±74,1	0,028
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	17,2±2,3	NS	5,6±1,3	NS	7,1±5,9	0,030
		Rec.(%)	221,7±34,6	NS	376,5±234,6	NS	139,0±49,3	NS
CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	33,0±4,4	NS	9,3±1,5	NS	18,6±5,4	NS	
	Rec.(%)	311,1±51,3	NS	765,4±401,1	NS	316,1±134,5	NS	
CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	10,4±0,5	NS	10,5±1,6	NS	14,0±1,5	0,004	
	Rec.(%)	107,5±3,6	NS	121,8±8,4	0,015	97,0±5,0	NS	

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación C Cy-G con GCS-F

## RESULTADOS

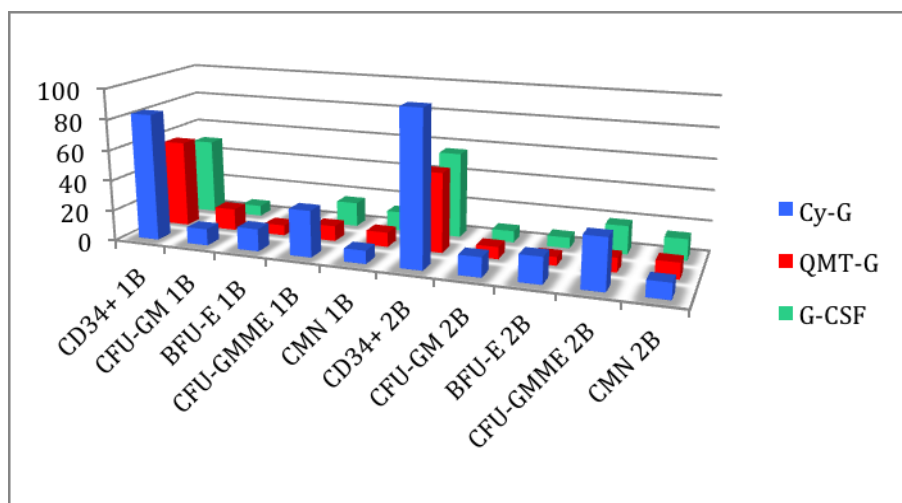


Figura 33: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos recogidos en las aféresis dividido según la movilización realizada en MM.

Los datos de las  $CD34^+$ /kg circulantes más altas los vimos en los pacientes movilizados con Cy-G que también se correspondió con las más altas en la primera y segunda bolsa y en el total ( $2,3 \times 10^6$ /kg), mientras que en los otros dos grupos el resultado fue similar, llegando a  $1,4 \times 10^6$ /kg en ambos (tabla 35 y figura 34).

**Tabla 35:  $CD34^+$  ( $nx10^6$ /kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la movilización en MM.**

$CD34^+$ ( $nx10^6$ /kg)	Cy-G (n=108)	QMT-G (n=20)	G-CSF (n=22)
<b>Circulantes</b>	<b>1,4±0,2</b>	<b>0,8±0,2</b>	<b>01,0±0,3</b>
<b>Primera bolsa</b>	<b>1,1±0,1</b>	<b>0,7±0,1</b>	<b>0,7±0,2</b>
<b>Segunda bolsa</b>	<b>1,2±0,1</b>	<b>0,6±0,1</b>	<b>0,7±0,2</b>
<b>Total bolsas</b>	<b>2,3±0,3</b>	<b>1,4±0,3</b>	<b>1,4±0,3</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

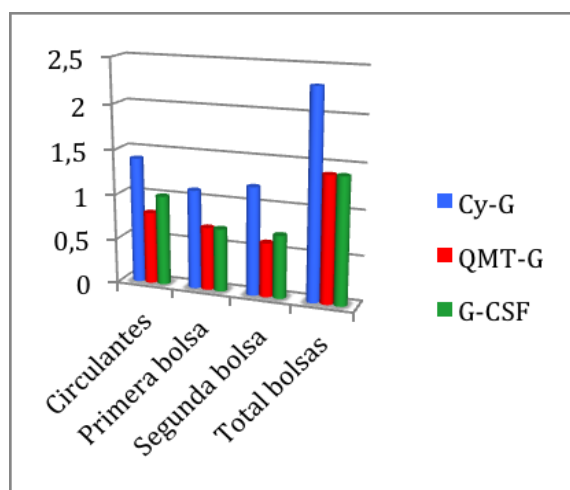


Figura 34:  $CD34^+$  ( $nx10^6$ /kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en MM.

### 2.2.5 REPERCUSIÓN DE LA SITUACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En el grupo de pacientes con MM, se realizaron 135 aféresis (90%) en remisión parcial, ocho (5%) en RC y siete (5%) en progresión, circunstancia a tener en cuenta a la hora de interpretar los datos estadísticos. Obtuvimos los datos absolutos en el paciente antes de iniciar la aféresis del recuento de CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-GM, colonias mixtas y CMN.

Al comparar en el grupo de MM los datos de células circulantes, el grupo de RC obtuvo los mejores resultados en todos los progenitores estudiados, alcanzando un nivel de diferencia estadísticamente significativo en las CD34<sup>+</sup>, BFU-E y CFU-GMME con respecto al grupo de RC. Las aféresis realizadas en progresión, a pesar de tener los resultados más bajos no llegó a nivel estadísticamente significativo posiblemente por el tamaño muestral y por la dispersión de los datos (CD34<sup>+</sup> de  $49,16 \times 10^6 \pm 16,0$ ) (tabla 36 y figura 35).

**Tabla 36: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en MM.**

Situación clínica	RC (n=8)	p*	RP (n=135)	p**	PROG. (n=7)	p***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	131,3±63,7	0,018	97,9±13,2	NS	49,1±16,0	NS
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	16,4±7,2	NS	13,1±1,5	NS	8,2±2,6	NS
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	37,4±17,2	<0,001	11,0±1,5	NS	ND	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	41,2±14,0	0,004	15,0±2,0	NS	ND	NS
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	12,8±3,4	NS	11,0±6,2	NS	8,2±2,6	NS
<b>VALOR (media +/- estándar error de la media) x10<sup>5</sup></b>		<b>ND: no datos</b>				
P* comparación RC con RP. P** comparación RC con PROG. P*** comparación RC con PROG						



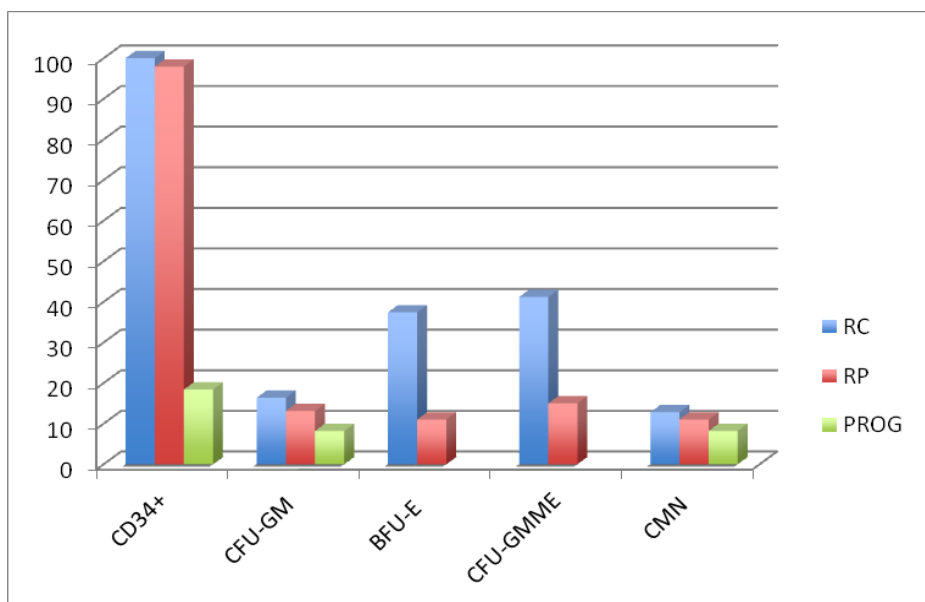


Figura 35: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en MM.

Al estudiar la recogida en las bolsas de aféresis en los pacientes con MM, a diferencia de lo que cabría esperar, en las aféresis realizadas a los pacientes en RC se obtuvieron las peores recogidas de CD34<sup>+</sup> y de CFU-GM frente a los otros dos grupos, que fueron similares, en cifras absolutas, en ambas bolsas. Respecto al porcentaje de células CD34<sup>+</sup> recuperadas fue de tan solo el 40,8% de las células totales pre-aféresis en la primera bolsa y del 66% en la segunda en los pacientes en RC frente a cifras superiores al 100% en los otros dos grupos (tabla 37, figura 36).

**Tabla 37: Situación clínica en el momento de la aféresis : Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos, en la primera y segunda bolsa, y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de MM.**

Movilización		RC (n=8)	P*	RP (n=135)	P**	PROG. (n=7)	P***	
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	28,9±15,2	NS	76,5±8,9	NS	76,0±29,1	NS
		Rec.(%)	40,8±17,5	0,010	100,8±77,4	NS	166,4±37,7	0,002
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	1,0±0,1	<0,001	11,1±2,2	<0,001	18,9±1,4	NS
		Rec.(%)	115,0±39,8	NS	317,4±148,0	NS	35,8±25,0	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	9,2±2,1	NS	12,1±1,8	NS	ND	NS
		Rec.(%)	50,0±22,3	0,002	215,2±45,0	NS	ND	NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	23,6±9,7	NS	25,2±3,8	NS	ND	NS
		Rec.(%)	100,6±51,9	NS	348,5±86,6	NS	ND	NS
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	6,1±2,0	NS	9,4±0,4	NS	11,2±3,4	NS
		Rec.(%)	60,1±12,5	0,040	89,6±2,2	NS	137,3±8,0	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	40,6±21,8	NS	88,3±9,5	NS	83,0±30,3	NS
		Rec.(%)	66,0±25,2	0,040	132,6±125,0	0,030	242,9±89,7	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	9,5±0,6	0,010	12,3±3,5	NS	24,0±1,5	NS
		Rec.(%)	405,4±173,6	NS	562,2±164,5	0,002	35,8±25,0	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	18,7±5,1	NS	13,7±1,8	NS	ND	-
		Rec.(%)	112,0±55,0	NS	229,8±36,8	NS	ND	-
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	39,3±13,0	NS	26,9±3,5	NS	ND	-
		Rec.(%)	174,9±102,2	NS	374,3±66,3	NS	ND	-
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	8,3±2,7	NS	11,1±5,6	NS	11,7±4,0	NS
		Rec.(%)	84,0±17,8	NS	107,6±2,7	<0,001	156,1±25,4	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación C Cy-G con GCS-F

## RESULTADOS

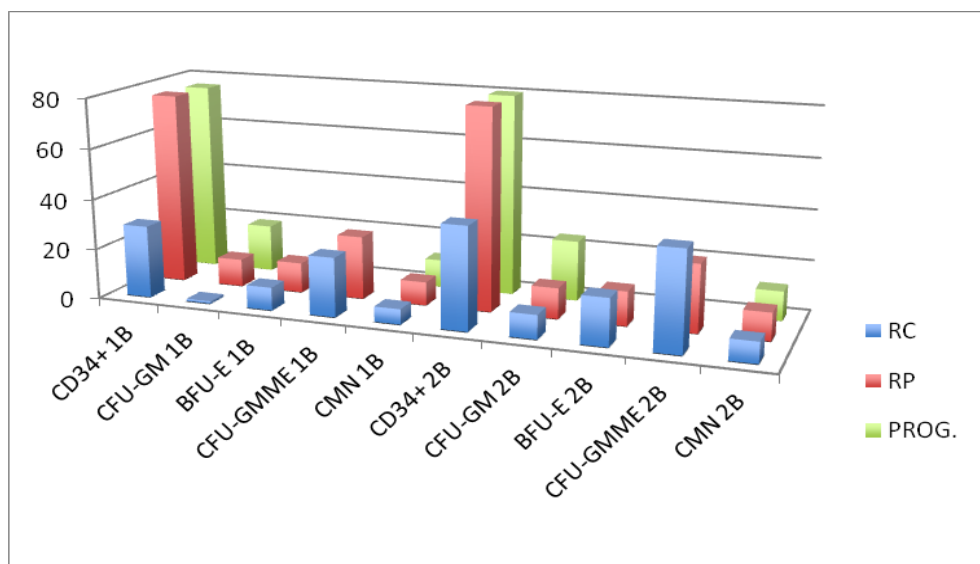


Figura 36: Comparación de progenitores hematopoyéticos en la primera y segunda bolsa según la situación clínica del paciente en MM.

Quando estudiamos las  $CD34^+$ /kg circulantes calculadas, la media en los pacientes en RC fue de  $1,8 \times 10^6 CD34^+/Kg$ , de  $1,3 \times 10^6 CD34^+/Kg$  los que estaban en RP y de  $0,6 \times 10^6 CD34^+/Kg$  en aquellos que se encontraban en progresión, curiosamente el grupo de MM en RC fue el que peores resultados obtuvo ya que sólo se llegó a  $1,1 \times 10^6/kg$  tras las dos bolsas mientras que en el grupo de RP se llegó a  $2,1 \times 10^6/kg$  y a  $1,8 \times 10^6/kg$  en progresión (tabla 38, figura 37).

**Tabla 38:  $CD34^+$  ( $nx10^6/kg$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total según la situación clínica en MM.**

$CD34^+$ ( $nx10^6/kg$ )	RC (n=8)	RP (n=135)	PROG. (n=7)
<b>Circulantes</b>	$1,8 \pm 0,8$	$1,3 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,6$
<b>Primera bolsa</b>	$0,5 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,3$
<b>Segunda bolsa</b>	$0,6 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,3$
<b>Total bolsas</b>	$1,1 \pm 0,6$	$2,1 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,6$
<b>Media <math>\pm</math> error estándar de la media</b>			

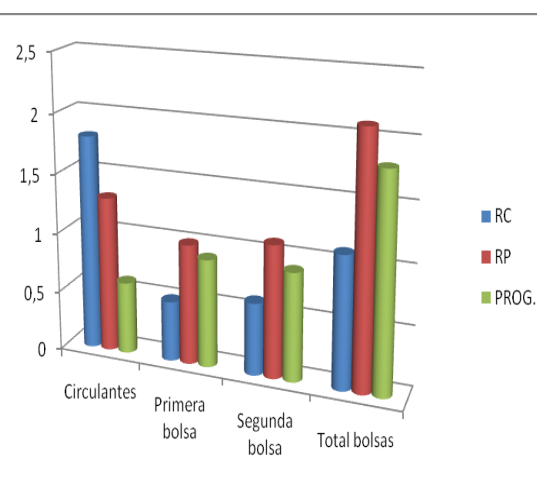


Figura 37:  $CD34^+$  ( $nx10^6/kg$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la situación clínica en MM.

### 2.2.6 REPERCUSIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

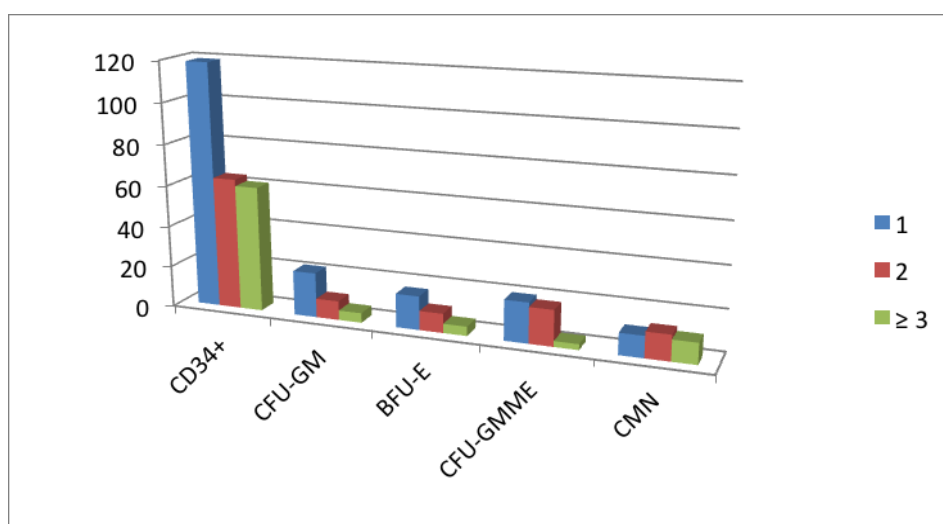
En el grupo de MM se realizaron 92 aféresis en pacientes que habían recibido una línea de tratamiento previa, 40 en aquellos que habían recibido dos líneas de tratamiento previas y 18 aféresis en los que habían tenido tres o más líneas de tratamiento antes de la aféresis (tabla 39 y figura 38).

**Tabla 39: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo de MM.**

Nº líneas de tratamiento	1 (n=92)	P*	2 (n=40)	P**	≥3 (n=18)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	118,9±18,8	0,003	63,7±12,7	NS	60,7±15,7	0,021
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	21,7±4,4	0,005	9,2±1,4-2	NS	4,7±1,3	0,026
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	16,3±2,9	0,012	9,3±1,7	NS	4,5±2,2	0,042
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	19,5±3,2	NS	17,4±3,4	0,003	2,8±1,4	0,004
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	10,4±0,7	NS	12,4±0,9	NS	10,2±1,4	NS

**VALOR (media +/- error estándar de la media)**

P\* comparación 1 línea con 2 líneas de tratamiento. P\*\*2 líneas con ≥3. p\*\*\* 1 línea con ≥3



**Figura 38: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo de MM.**

Al igual que ocurría en el grupo total, el grupo con mayor número de CD34<sup>+</sup> pre-proceso (basal, previo al inicio del proceso de aféresis) fue el que había recibido una única línea de tratamiento y observamos que la cifra se fue reduciendo conforme aumentaba el número de tratamientos recibidos, con significación estadística, tanto una versus dos líneas como con tres o más.

En el resto de los progenitores ocurre lo mismo, con significación estadística en las CFU-GM y BFU-E y únicamente en las CMN obtuvimos un mayor número en los que habían recibido dos líneas de tratamiento, aunque sin llegar a ser significativo.

En la recogida en las aféresis, encontramos diferencias estadísticamente significativas en las CD34<sup>+</sup> obtenidas en la primera y segunda bolsa de los pacientes tratados con una única línea de tratamiento ( $83 \times 10^6$  y  $97,8 \times 10^6$ , respectivamente) frente a la de dos ( $55,4 \times 10^6$  y  $66,9 \times 10^6$ ),  $p < 0,005$ . Lo mismo ocurrió con las CFU-GM de ambas bolsas.

En cuanto a las diferencias entre dos y tres o más líneas de tratamiento previas, se obtuvieron más CD34<sup>+</sup> en los más tratados tanto tras la primera ( $55,4 \times 10^6$  vs  $69 \times 10^6$ ) como en la segunda ( $66 \times 10^6$  vs  $84 \times 10^6$ ) mitad de la aféresis.

Al comparar la recuperación celular según una línea o dos líneas de tratamiento, no encontramos diferencias significativas en las CD34<sup>+</sup> entre los dos grupos, aunque la recuperación fue buena (cercana o mayor del 100%) en ambas bolsas llegando a ser hasta de 3-4 veces en CFU-GM de ambas bolsas en los tres grupos y CFU-GMME en la primera y segunda bolsa de los tratados con una y los tratados con tres o más líneas (tabla 40 y figura 39).

**Tabla 40: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según las líneas de tratamiento previas y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de MM.**

Líneas (N)		1 (n=92)	P*	2 (n=40)	P**	3 (n=18)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	83,0±12,2	0,024	55,4±9,7	0,039	69,0±17,6	NS
	Rec.(%)	98,3±8,8	NS	94,4±7,2	NS	128,9±16,9	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	19,4±3,3	0,002	14,6±3,2	NS	18,0±2,5	0,005
	Rec.(%)	341,2±67,8	NS	357,6±110,2	NS	642,2±299,9	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	12,7±2,5	NS	11,4±2,3	NS	12,2±1,9	NS
	Rec.(%)	196,4±61,1	NS	142,7±39,1	NS	450,2±170,6	NS
	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	25,1±4,6	NS	32,0±7,9	0,020	10,2±3,8	NS
	Rec.(%)	360,2±129,0	0,026	187,2±35,2	0,024	581,1±226,6	NS
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	8,6±0,5	NS	10,0±0,7	0,004	11,2±2,3	0004
	Rec.(%)	86,9±2,8	NS	89,9±4,4	NS	107,5±7,2	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	97,8±12,9	0,010	66,4±11,9	NS	89,0±9,9	NS
	Rec.(%)	134,0±14,7	NS	120,2±14,5	NS	172,5±41,8	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	17,8±2,8	0,001	12,1±2,9	0,015	16,2±2,2	0,013
	Rec.(%)	342,0±72,7	NS	217,2±48,2	NS	618,7±267,4	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	14,6±2,1	NS	13,0±2,9	NS	14,1±1,7	NS
	Rec.(%)	201,4±45,6	NS	176,1±39,2	0,001	487,0±151,7	NS
	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	34,4±5,2	0,024	20,7±3,6	NS	29,8±3,7	NS
	Rec.(%)	394,9±89,9	NS	159,5±29,1	<0,001	731,1±239,0	NS
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	10,5±0,6	NS	11,5±0,7	NS	11,8±2,6	NS
	Rec.(%)	109,2±3,7	NS	102,7±4,0	0,040	117,9±13,3	NS
VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P* : comparación 1 línea con 2 líneas. P** : comparación 2 líneas con 3 líneas. P*** : comparación 1 línea con 3 líneas.							

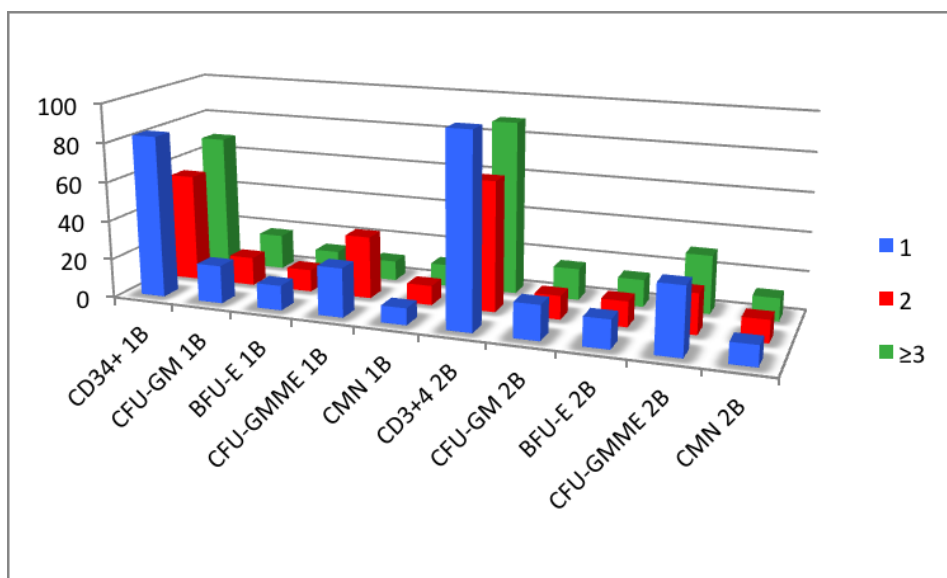
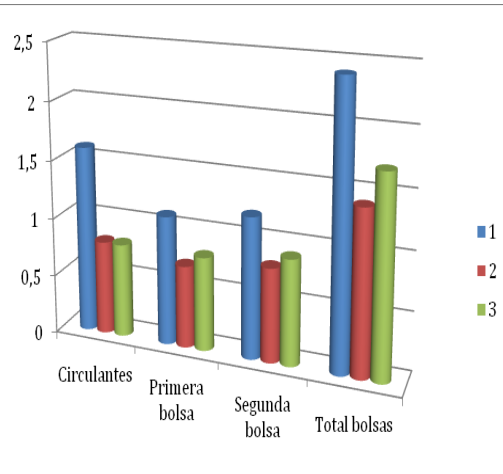


Figura 39: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN totales obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, según el número de tratamientos previos recibidos en el grupo de MM.

Las células CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes calculadas antes de cada aféresis fueron de  $1,6 \times 10^6$ /kg en los casos que habían recibido una línea de tratamiento previa y de 0,8 en los que habían recibido dos o más, obteniéndose, en las dos bolsas de la aféresis un total de  $2,4 \times 10^6$ CD34<sup>+</sup>/kg en el primer caso y de  $1,4 \times 10^6$ CD34<sup>+</sup>/kg en los que habían recibido dos líneas y de 1,7 en el caso de tres o más líneas de tratamiento previas (tabla 41, figura 40).

**Tabla 41: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en MM.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	1 (n=92)	2 (n=40)	≥ 3 (n=18)
<b>Circulantes</b>	1,6±0,2	0,8±0,1	0,8±0,2
<b>Primera bolsa</b>	1,1±0,1	0,7±0,1	0,8±0,2
<b>Segunda bolsa</b>	1,2±0,1	0,8±0,1	0,9±0,2
<b>Total bolsas</b>	2,4±0,3	1,4±0,2	1,7±0,4
<b>Media± error estándar error de la media</b>			



**Figura 40: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en MM.**

### 2.3 LINFOMA NO HODGKIN

51 pacientes del estudio tenían un LNH, a los que se les realizaron un total de 136 aféresis. A continuación se detallan los datos correspondientes a parámetros hematológicos, progenitores hematopoyéticos y aféresis.

#### 2.3.1 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES CIRCULANTES

Tras procesar las dos primeras volemias encontramos una disminución significativa de las células CD34<sup>+</sup> circulantes, mientras que, por el contrario, las CMNT y las CFU-GM aumentaban, alcanzando las significación estadística en éstas últimas (tabla 42).

**Tabla 42: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de LNH.**

	CMNT (x10 <sup>9</sup> )	CD34 <sup>+</sup> (x10 <sup>6</sup> )	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )
<b>Pre-aféresis</b>	5,9±0,6	47,4±10,7	5,2±1,2	6,4±1,6	10,2±2,9
<b>Mitad de aféresis (tras dos volemias)</b>	10,5±3,6	40,0±5,9*	19,5±4,3*	-	-

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)



**2.3.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS**

Al comparar la celularidad recolectada en la primera y segunda bolsa, observamos que el número de células CD34<sup>+</sup> fue mayor en la segunda (valor estadísticamente significativo), al igual que ocurrió con las CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME y únicamente las CMN recolectadas tras la 2ª bolsa fueron las ligeramente inferior (tabla 43 Y figura 41).

La recuperación celular, calculadas como porcentaje de las totales basales circulantes fue superior en la segunda bolsa llegando a nivel significativo en las células CD34<sup>+</sup> y CMN. En el total recogido, se obtuvo más del 200% de recuperación con un máximo en las CFU-GMME que llegaron a recuperarse en un 848,3% (tabla XX, figura XX).

La recuperación de CD34<sup>+</sup> ya en la primera bolsa fue de más del 100% (111,7%) y superando esta cifra en la segunda bolsa, hasta el 139,1% con un total en ambas bolsas del 250,8% por lo que el rendimiento, a pesar de presentar una cifra basal de CD34<sup>+</sup> baja, fue muy bueno (tabla 43, figura 41).

**Tabla 43: LNH: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	36,5±5,9	<0,001	46,7±7,2	83,2±13,0
	Rec.(%)	111,7±10,3	<0,001	139,1±10,4	250,8±19,7
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	8,2±1,2	NS	9,3±2,3	12,8±3,0
	Rec.(%)	296,7±51,7	NS	399,9±108,2	542,3±59,6
BFU-E	(nx10 <sup>5</sup> )	8,4±1,7	NS	9,2±2,0	17,4±3,4
	Rec.(%)	301,5±69,6	NS	348,9±112,0	657,0±170,9
CFU-GMME	(nx10 <sup>5</sup> )	15,0±4,1	NS	21,0±6,8	36,0±9,8
	Rec.(%)	306,2±72,8	NS	517,2±235,6	848,3±311,7
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	13,0±4,7	NS	10,9±0,8	23,9±4,8
	Rec.(%)	95,0±4,3	0,001	131,2±12,2	277,4±53,1

Media± error estándar de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
 Rec.(%): porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

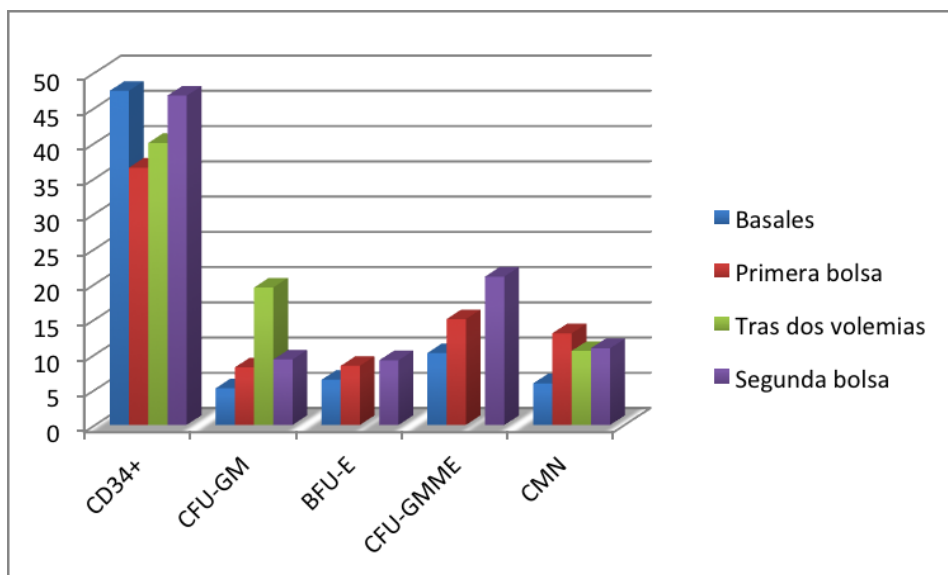


Figura 41: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente y en las bolsas de aféresis en el grupo de LNH inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemiás (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda)

### 2.3.3 DATOS DE LAS CD34<sup>+</sup>/KG CIRCULANTES Y EN CADA UNA DE LAS BOLSAS DE AFÉRESIS

Las CD34<sup>+</sup> circulantes calculadas pre-aféresis, así como las obtenidas tras procesar la primera y segunda mitad de la aféresis se muestran en la **tabla 44** y en la **figura 42**

**Tabla 44: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

	CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)
Circulantes	0,6±0,1
Primera bolsa	0,5±0,0
Segunda bolsa	0,6±0,1
Total bolsas	1,1±0,2
<b>Media± error estándar de la media</b>	

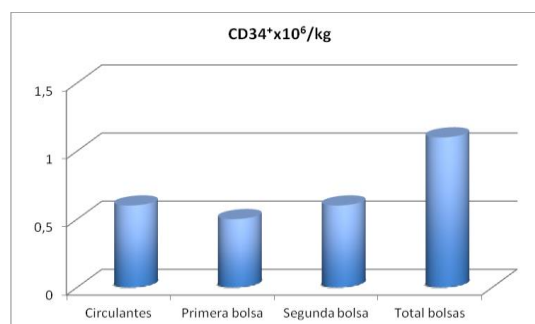


Figura 42: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.

### 2.3.4 REPERCUSIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

Al estudiar los PH basales en LNH, vimos que el grupo con más CD34<sup>+</sup> fue el movilizado con Cy-G y, que alcanzó diferencias estadísticamente significativas frente al movilizado con QMT-G (que obtuvo las cifras más bajas de CD34<sup>+</sup> preaféresis). También las mayores cifras de CFU-GM basales se obtuvieron en el grupo de Cy-G con diferencias significativas ante los otros dos grupos. Los movilizados con Cy-G presentaron más BFU-E y CFU-GMME basales que los de QMT-G (tabla 45 y figura 43).

**Tabla 45: Comparación de progenitores hematopoyéticos totales circulantes pre-aféresis según el esquema de movilización en LNH.**

Movilización	Cy-G (n=89)	p*	QMT-G (n=15)	p**	G-CSF (n=32)	p***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	58,1±16,0	0,019	17,3±6,5	NS	31,5±7,2	NS
CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	11,7±2,7	0,014	4,1±1,4	NS	4,7±1,3	0,021
CMN (x10 <sup>9</sup> )	8,3±0,5	NS	10,6±2,3	NS	13,2±1, <sup>e</sup>	<0,001
BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	5,6±1,7	0,021	1,2±0,5	NS	11,4±4,6	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	10,0±3,3	0,032	2,1±1,3	NS	14,0±8,1	NS
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media )</b>						
P* comparación Cy-G con QMT-G. p** comparación QMT-G con G-CSF. p*** comparación Cy-G con G-CSF						

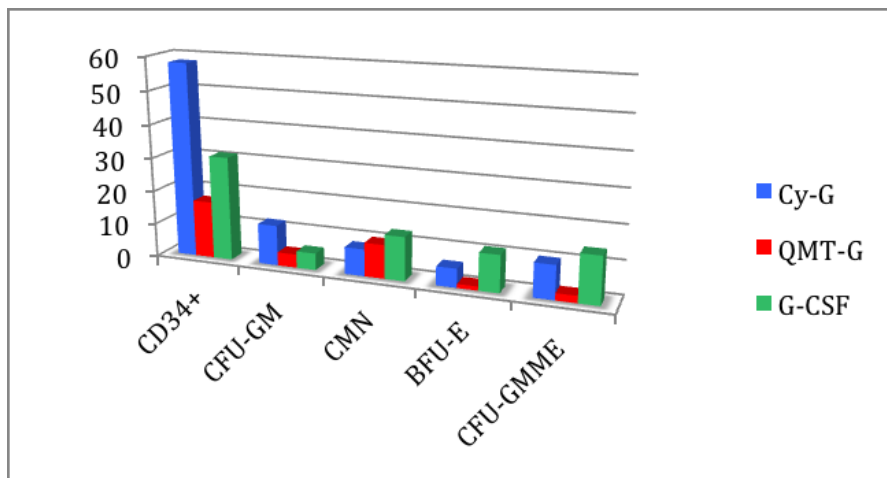


Figura 43: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos basales dividido según la movilización realizada en LNH.

En consonancia con lo observado en los controles pre-aféresis, se recolectaron más células CD34<sup>+</sup> en el grupo movilizado con Cy-G tanto en la primera como en la segunda bolsa con diferencias estadísticamente significativa frente al grupo de QMT-G (en ambas bolsas, este último grupo obtuvo la recogida más baja).

Tanto en el grupo de Cy-G como de QMT-G se recuperaron en cada una de las bolsas más del 100% de CD34<sup>+</sup> y casi se alcanzó el 100% en el grupo movilizado con G-CSF. Las CFU-GM se recuperaron más de tres veces en la primera bolsa de G-CSF y las CFU-GMME hasta seis veces en la segunda bolsa de Cy-G (tabla 46 y figura 44).

## RESULTADOS

**Tabla 46: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según el esquema de movilización y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de LNH.**

Movilización		Cy-G (n=89)	P*	QMT-G (n=15)	P**	G-CSF (n=32)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	42,9±8,6	0,009	16,3±5,1	NS	28,3±6,7	NS
	Rec.(%)	110,0±9,3	NS	171,9±69,9	NS	84,8±9,6	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	10,1±2,7	0,019	2,6±1,7	NS	2,6±1,0	0,009
	Rec.(%)	279,8±40,8	0,004	77,4±34,7	NS	325,0±120,1	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	7,2±1,9	NS	4,0±3,2	NS	14,6±4,5	NS
	Rec.(%)	300,7±92,1	NS	336,2±155,0	NS	288,3±138,2	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		12,7±3,3	0,023	3,9±1,7	NS	26,8±16,3	NS
	Rec.(%)	313,8±99,7	NS	307,4±11,3	NS	283,1±118,2	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		7,2±0,4	NS	8,8±1,9	NS	31,0±20,0	NS
	Rec.(%)	97,7±6,1	NS	96,5±11,7	NS	304,8±217,4	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	54,9±10,5	0,040	25,6±9,2	NS	33,9±8,0	NS
	Rec.(%)	143,6±13,5	NS	174,6±39,5	NS	105,9±10,9	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	6,3±1,9	NS	7,1±4,7	NS	1,5±0,5	0,016
	Rec.(%)	311,5±36,0	<0,001	97,6±33,4	0,025	265,7±54,4	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	7,5±2,2	NS	3,7±2,1	0,036	16,9±5,3	NS
	Rec.(%)	358,8±156,4	NS	210,1±65,1	NS	378,6±267,1	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		20,8±8,6	NS	5,0±2,4	NS	27,6±14,2	NS
	Rec.(%)	599,4±341,1	NS	431,5±128,5	NS	296,7±91,3	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		9,8±1,0	NS	9,8±1,9	0,047	14,4±1,1	0,003
	Rec.(%)	141,5±18,4	NS	113,0±15,0	NS	111,0±4,3	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación Cy-G con GCS-F

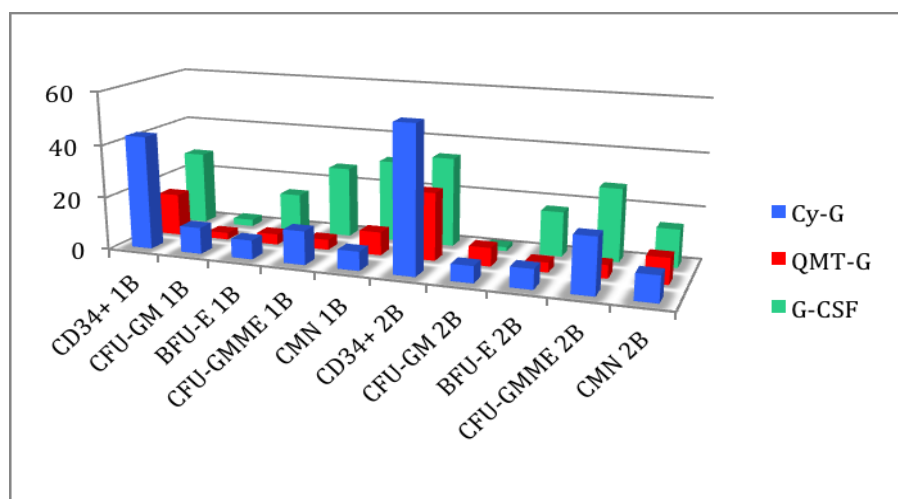


Figura 44: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos recogidos en las aféresis dividido según la movilización realizada en LNH.

En la tabla 47 y en la figura 45 se muestran las CD34<sup>+</sup>/Kg calculadas pre-aféresis así como la obtenidas tras el procedimiento de recogida

**Tabla 47: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la movilización en LNH.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	Cy-G (n=89)	QMT-G (n=15)	G-CSF (n=32)
<b>Circulantes</b>	0,8±0,2	0,3±0,1	0,5±0,1
<b>Primera bolsa</b>	0,6±0,1	0,2±0,1	0,4±0,1
<b>Segunda bolsa</b>	0,7±0,1	0,4±0,1	0,5±0,1
<b>Total bolsas</b>	<b>1,3±0,2</b>	<b>0,6±0,2</b>	<b>0,9±0,2</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

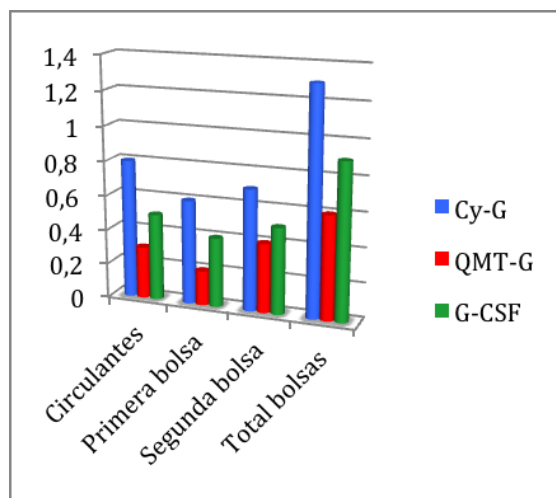


Figura 45: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en LNH.

### 2.3.5 REPERCUSIÓN DE LA SITUACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En los pacientes con LNH se realizaron un total de 136 aféresis, 81 en RC, 42 en RP y 13 en progresión.

Cuando estudiamos las células circulantes en el grupo de LNH según la situación de la enfermedad de base, tanto la CD34<sup>+</sup> como las CFU-GM más altas se obtuvieron en el grupo RC con diferencia significativa con respecto a los otros dos (tabla 48 y figura 46).

**Tabla 48: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en LNH.**

Situación clínica	RC (n=81)	P*	RP (n=42)	P**	PROG. (n=13)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	62,4±17,4	0,001	18,9±4,5	NS	45,1±21,5	NS
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	12,7±3,0	0,002	3,3±0,7	0,040	7,6±3,0	NS
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	7,6±2,4	NS	3,3±1,3	NS	8,8±6,1	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	11,8±4,0	NS	5,3±3,2	NS	14,9±12,2	NS
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	9,6±0,7	NS	8,9±1,0	NS	12,0±1,7	NS

**VALOR (media +/- error estándar de la media)**

P\* RC comparado con RP. P\*\* RP comparado con PROG. P\*\*\* RC comparado con PROG

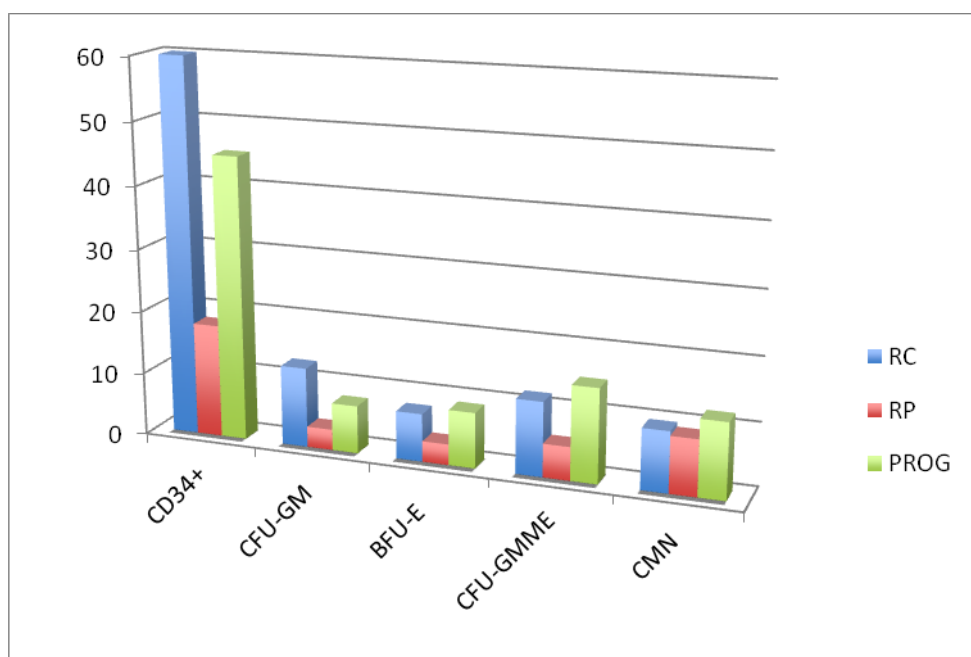


Figura 46: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en LNH.

Tras analizar los progenitores hematopoyéticos recolectados en las bolsas de aféresis, en todas las células, excepto en las CMN, la mayor obtención tuvo lugar en el grupo RC con diferencias importantes, llegando a ser estadísticamente significativas en: CD34<sup>+</sup>, CFU-GM y BFU-E de ambas bolsas frente a los valores obtenidos en las aféresis realizadas a pacientes en situación de RP (tabla 49 y figura 47).

La recuperación celular en las aféresis fue excelente en todos los grupos y para todos los progenitores hematopoyéticos con valores de más del 100% en todos y llegando a recuperarse hasta 5-6 veces las CFU-GMME (tabla 49).

**Tabla 49: Situación clínica en el momento de la aféresis: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa, expresados como cantidad total y como porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis, en el grupo LNH.**

Situación clínica			RC (n=81)	P*	RP (n=42)	P**	PROG. (n=13)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	47,6±9,3	0,002	15,8±3,4	NS	34,8±14,2	NS
		Rec.(%)	122,1±15,7	NS	88,3±9,4	NS	115,7±25,7	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	11,0±2,9	0,020	3,4±1,3	0,006	0,8±0,4	0,001
		Rec.(%)	344,7±56,9	0,020	189,2±39,1	0,001	42,3±14,3	<0,001
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	12,4±2,5	<0,001	1,5±0,3	NS	6,6±4,7	NS
		Rec.(%)	392,3±99,0	0,030	148,2±43,3	NS	56,2±32,9	0,003
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	15,4±4,0	NS	14,6±11,0	NS	14,3±9,4	NS
		Rec.(%)	348,1±113,2	NS	268,4±67,7	NS	170,6±115,9	NS
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	8,8±0,6	0,040	22,3±15,9	NS	9,8±1,0	NS
		Rec.(%)	104,4±6,9	NS	251,9±174,2	NS	88,1±7,2	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	60,7±11,3	NS	20,1±4,7	NS	45,4±18,8	NS
		Rec.(%)	153,4±16,0	0,001	105,1±10,0	NS	145,6±18,8	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	7,9±2,2	0,016	2,1±0,6	0,006	0,3±0,1	NS
		Rec.(%)	330,1±319,1	NS	248,1±48,7	NS	121,0±43,6	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	13,4±3,2	NS	3,1±1,1	NS	5,8±3,6	NS
		Rec.(%)	475,0±180,2	NS	124,4±37,2	NS	90,4±39,1	NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	26,7±11,1	NS	12,9±9,5	NS	16,8±8,9	NS
		Rec.(%)	663,5±390,0	NS	345,6±91,5	NS	173,0±104,4	NS
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	11,6±1,2	NS	8,7±0,9	0,024	12,6±1,6	NS
		Rec.(%)	148,7±20,4	0,030	103,9±4,9	NS	111,1±5,1	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. RC: respuesta completa. RP: respuesta parcial. Prog: progresión. P\* : comparación RC con RP. P\*\* : comparación RP con Progresión. P\*\*\*: comparación RC con Progresión



## RESULTADOS

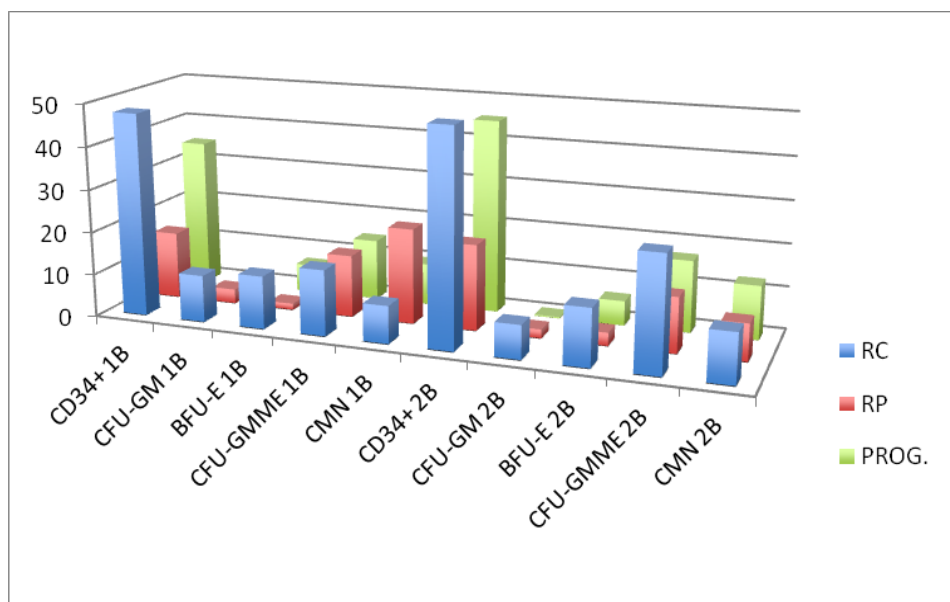


Figura 47: Comparación de progenitores hematopoyéticos en la primera y segunda bolsa según la situación clínica del paciente en LNH.

Las células  $CD34^+$ /Kg circulantes pre-proceso calculadas se muestran en la tabla 50 y en la figura 48. Se obtuvo entre un 175 y un 200% de estas células tras completar la aféresis de alto volumen .

**Tabla 50:  $CD34^+$  ( $nx10^6/kg$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total según la situación clínica en LNH.**

$CD34^+$ ( $nx10^6/kg$ )	RC (n=8)	RP (n=142)	PROG. (n=7)
<b>Circulantes</b>	0,8±0,2	0,3±0,1	0,6±0,3
<b>Primera bolsa</b>	0,6±0,1	0,2±0,1	0,5±0,2
<b>Segunda bolsa</b>	0,8±0,1	0,3±0,1	0,6±0,3
<b>Total bolsas</b>	1,4±0,2	0,6±0,1	1,1±0,5
<b>Media± error estándar de la media</b>			

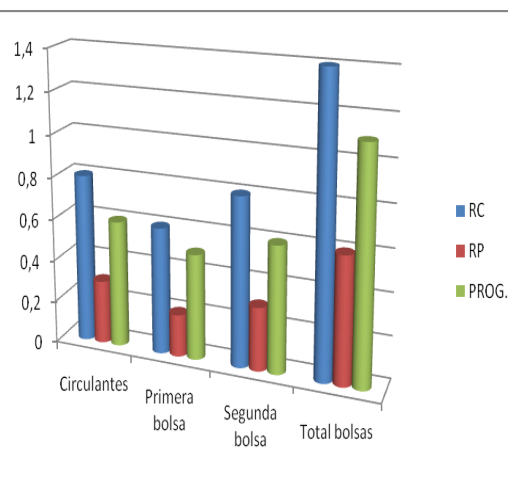


Figura 48:  $CD34^+$  ( $nx10^6/kg$ ) circulantes, en ambas bolsas y total en función a la situación clínica en LNH.

### 2.3.6 REPERCUSIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

Al comparar en los pacientes con LNH las células totales circulantes pre-proceso observamos, al contrario de lo esperable, una mayor cantidad de CD34<sup>+</sup> en los que habían recibido dos líneas de tratamiento con respecto a una, aunque sin ser este dato estadísticamente significativo. En ambos casos, si se encontraron diferencias al comprarlos con tres o más líneas (tabla 51 y figura 49).

Cuando compramos el resto de los progenitores si que, los pacientes con más líneas de tratamiento tuvieron un nivel de progenitores basales menor, llegando a ser estadísticamente significativo en lo que respecta a las CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME de una respecto a dos y a más, y CFU-GM dos respecto a tres o más.

**Tabla 51: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo de LNH.**

Nº líneas de tratamiento	1 (n=43)	P*	2 (n=49)	P**	≥3 (n=44)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	50,2±9,1	NS	67,5±28,0	0,030	22,1±4,8	0,030
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	13,9±1,8	0,018	7,2±1,8	0,030	4,0±1,0	<0.001
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	14,5±5,1	0,014	4,0±1,1	NS	3,9±1,8	0,035
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	24,7±8,8	0,002	5,2±2,3	NS	6,0±3,4	0,012
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	6,8±0,9	NS	6,6 ±0,9	NS	4,3±0,9	NS
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media )</b>						
P*: comparación 1 línea con 2 líneas. P***: comparación 2 líneas con 3 líneas. P***: comparación 1 línea con ≥3 líneas.						

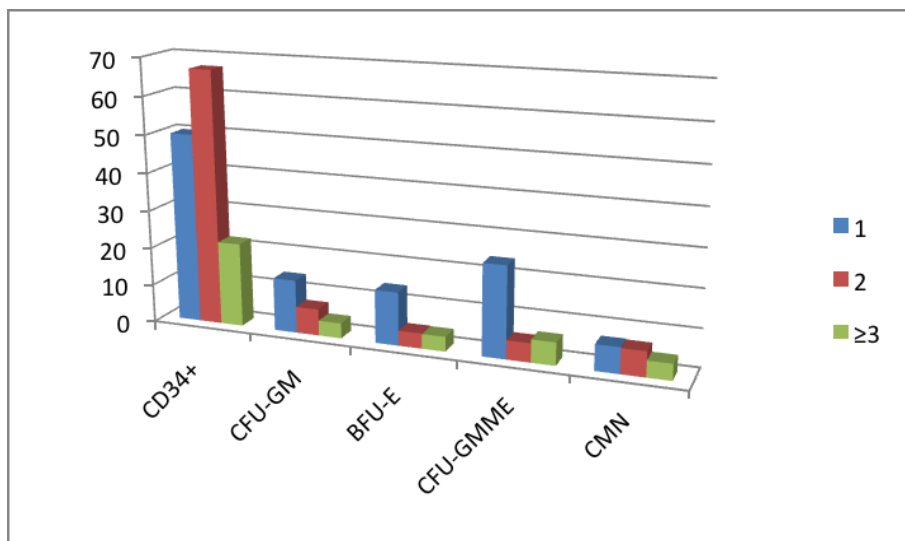


Figura 49: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en LNH.

En lo que respecta a los datos post-proceso, en los pacientes que habían recibido una o dos líneas de tratamiento se recogieron más CD34<sup>+</sup> en ambas bolsas de aféresis con diferencias estadísticamente significativas frente a los que habían sido tratados con tres o más líneas.

Del resto, se vieron diferencias en las BFU-E y CFU-GMME de ambas bolsas con respecto a dos y tres o más (tabla 52 y figura 50).

La recuperación celular fue muy buena en los pacientes menos tratados, ya fuera con una o dos líneas de tratamiento, obteniendo en las CD34<sup>+</sup> entorno al 100% y hasta 5 veces en el resto. Al comparar estos no grupos no obtuvimos diferencias significativas.

También en los más tratados, con tres o más líneas, se obtuvo una recuperación mayor del 100% en todas las células, y de hasta 8,5 veces en las CFU-GMME de la segunda bolsa. Y tampoco hubo diferencias significativas al comparar este grupo con los que recibieron una o dos líneas de tratamiento (tabla 52).

**Tabla 52: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según las líneas de tratamiento previas y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de LNH.**

Líneas (N)		1 (n=43)	P*	2 (n=49)	P**	3 (n=44)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	39,1±5,7	NS	48,9±15,0	0,016	19,6±4,2	0,018
	Rec.(%)	94,6±0,5	NS	120,0±22,7	NS	123,8±19,8	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	8,2±2,3	NS	9,6±4,6	NS	4,4±1,3	0,006
	Rec.(%)	276,3±204,9	NS	204,9±46,3	0,013	172,3±31,6	<0,001
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	19,5±5,1	0,018	4,4±1,4	NS	6,1±2,1	0,016
	Rec.(%)	311,8±130,5	NS	231,2±81,5	NS	352,2±137,1	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	Rec.(%)	36,1±26,8	0,009	7,2±3,0	NS	9,8±3,6	0,006
	Rec.(%)	258,7±81,1	NS	212,7±90,6	NS	402,7±148,0	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )	Rec.(%)	10,0±0,8	NS	8,5±0,7	NS	22,3±15,9	NS
	Rec.(%)	94,4±4,7	NS	94,2±4,3	0,038	255,1±158,3	0,022
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	55,0±0,7	NS	57,0±17,3	0,033	25,2±6,0	0,031
	Rec.(%)	132,9±12,1	NS	133,8±5,7	NS	154,4±27,3	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	4,3±1,5	NS	7,8±3,4	0,026	3,1±1,0	NS
	Rec.(%)	305,7±78,6	NS	281,0±40,9	NS	282,2±40,5	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	22,2±6,2	0,002	4,4±1,5	NS	6,0±1,9	0,006
	Rec.(%)	385,8±240,0	NS	428,2±309,8	NS	260,6±62,2	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	Rec.(%)	61,2±26,8	<0,001	5,6±2,2	<0,001	11,7±3,5	<0,001
	Rec.(%)	401,7±162,9	0,023	111,4±39,9	NS	850,2±517,1	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )	Rec.(%)	11,7±0,9	NS	10,5±0,8	NS	10,4±2,0	NS
	Rec.(%)	113,4±6,4	NS	118,3±5,3	NS	162,9±36,6	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\*: comparación 1 línea con 2 líneas. P\*\*: comparación 2 líneas con 3 líneas. P\*\*\*: comparación 1 línea con 3 líneas.

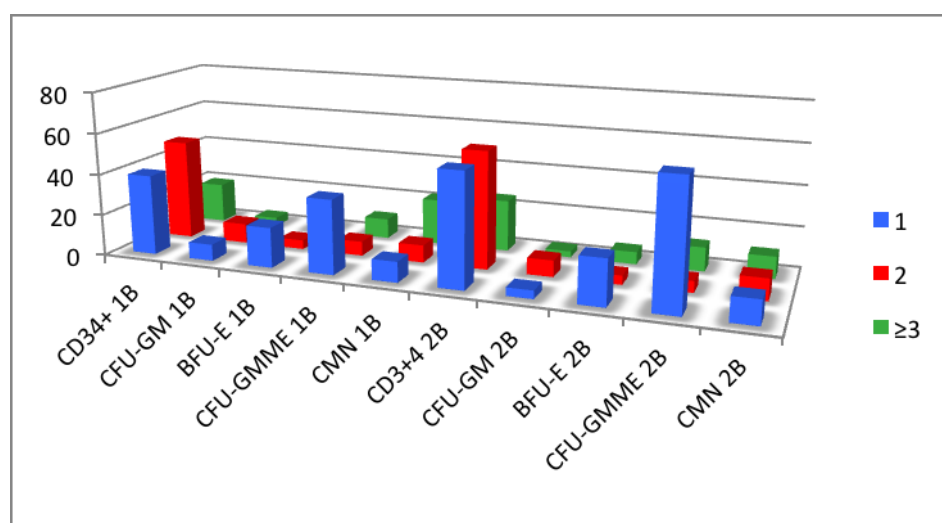


Figura 50: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN totales obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, en función al número de tratamientos previos recibidos en LNH

## RESULTADOS

Las células CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes fueron de 0,7x10<sup>6</sup>/kg en los casos que habían recibido una línea de tratamiento previa y de 0,9 x10<sup>6</sup>/kg en los que habían recibido dos líneas y de 0,3 x10<sup>6</sup>/kg en el caso de tres o más; obteniéndose, en las dos bolsas de la aféresis un total de 1,2x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/kg en el primer caso y de 1,4x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/kg en los que habían recibido dos líneas y de 0,6 x10<sup>6</sup>/kg en el caso de tres o más líneas de tratamiento previas (tabla 53, figura 51).

**Tabla 53: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en LNH.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	1 (n=43)	2 (n=49)	≥ 3 (n=44)
<b>Circulantes</b>	0,7±0,1	0,9±0,4	0,3±0,1
<b>Primera bolsa</b>	0,5±0,1	0,7±0,2	0,3±0,0
<b>Segunda bolsa</b>	0,7±0,1	0,8±0,2	0,4±0,1
<b>Total bolsas</b>	<b>1,2±0,2</b>	<b>1,4±0,4</b>	<b>0,6±0,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

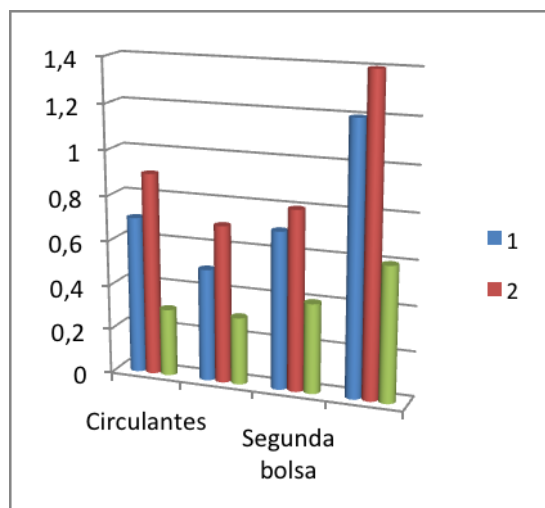


Figura 51: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en LNH.

## 2.4 ENFERMEDAD DE HODGKIN

En este estudio se analizaron 48 aféresis correspondientes a 18 pacientes con EH, características de edad, situación clínica y líneas de tratamiento recibidas descritas en el apartado 1. A continuación describimos los datos correspondientes a parámetros hematológicos, progenitores hematopoyéticos y aféresis.

### 2.4.1. CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES CIRCULANTES

En este grupo, seguimos observando, al igual que en los MM y en los LNH que hubo una disminución de las células CD34<sup>+</sup> y un aumento de CMN y CFU\_GM circulantes en sangre periférica a mitad de la aféresis, una vez procesadas las primeras 2 volemias (tabla 54).

**Tabla 54: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de EH.**

	CMNT (x10 <sup>9</sup> )	CD34 <sup>+</sup> (x10 <sup>6</sup> )	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )
Pre-aféresis	5,9±0,6	44,9±12,5	4,6±1,4	4,1±1,3	5,5±1,4
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	6,6±0,5*	31,3±6,6*	15,7±3,7*	ND	ND

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)

### 2.4.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

Al ver los progenitores hematopoyéticos recogidos en la primera y segunda bolsa, observamos que sólo el número de células CD34<sup>+</sup> fue mayor en la primera, mientras que el resto fue mayor en la segunda, sin llegar a ser estadísticamente significativo en la misma (tabla 55 y figura 52).

La recuperación, calculadas como porcentaje de las totales basales circulantes de PH fue superior o similar al 100% y mayor en la segunda bolsa respecto a la primera. No encontramos diferencias significativas en cuanto a la recuperación entre ambas bolsas de aféresis (tabla 55).

**Tabla 55: EH: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	46,8±15,8	NS	39,4±9,2	86,3±22,8
	Rec.(%)	110,6±25,3	NS	116,7±9,3	227,3±29,7
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	0,3±0,1	NS	6,6±3,4	16,7±5,2
	Rec.(%)	342,6±133,5	NS	337,1±90,1	436,6±86,2
BFU-E	(nx10 <sup>5</sup> )	5,7±1,6	NS	8,7±3,6	14,4±4,3
	Rec.(%)	176,6±46,8	NS	228,2±76,6	404,8±99,2
CFU-GMME	(nx10 <sup>5</sup> )	10,2±3,0	NS	24,2±11,8	34,4±14,6
	Rec.(%)	353,0±100,7	NS	708,3±324,5	1061,2±404,2
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	7,9±0,7	NS	12,4±3,0	20,3±3,3
	Rec.(%)	117,8±8,6	NS	136,9±20,4	229,1±22,0

Media± estándar error de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
 Rec.(%): porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

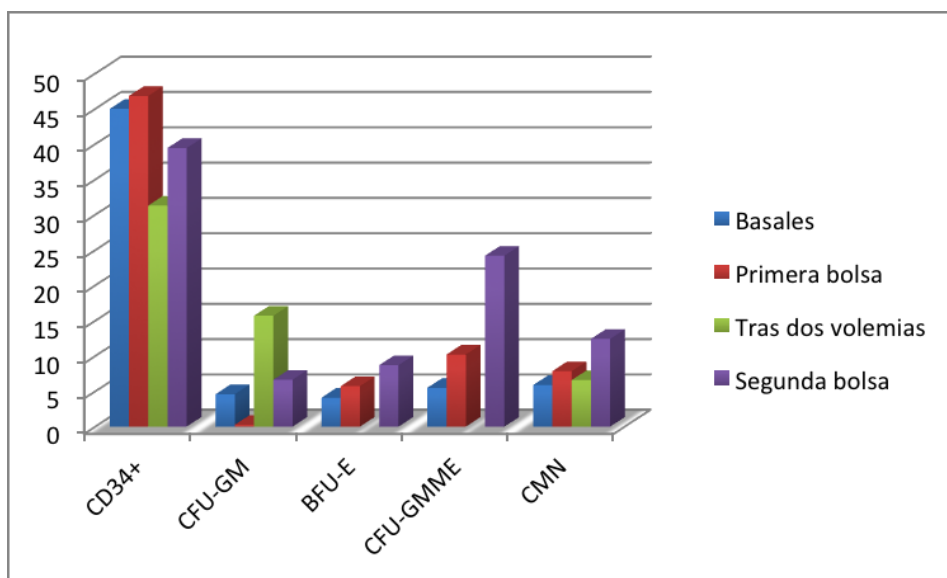


Figura 52: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente y en las bolsas de aféresis en el grupo de EH inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemias (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda)

### 2.4.3 DATOS DE LAS CD34<sup>+</sup>/KG CIRCULANTES Y EN CADA UNA DE LAS BOLSAS DE AFÉRESIS

La cifra de CD34<sup>+</sup>/kg circulantes fue inferior a  $1 \times 10^6$  pero la recuperación fue muy buena, llegando a obtener un 100% y 85% en la primera y segunda bolsa con respecto a las basales y con un total de 171% en ambas (tabla 56 y figura 53).

**Tabla 56: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

	CD34 <sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ )
Circulantes	0,7±0,2
Primera bolsa	0,7±0,2
Segunda bolsa	0,6±0,1
Total bolsas	1,2±0,3
<b>Media± error estándar de la media</b>	

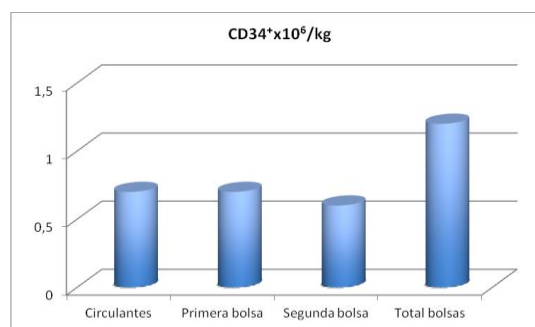


Figura 53: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total.

### 2.4.4 REPERCUSIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

Aunque la cifra basal más alta de CD34<sup>+</sup> circulantes se vio en los movilizados con QMT-G, no llegó a tener diferencias estadísticamente significativas probablemente por el bajo número de aféresis incluidos en este grupo (n=3). En el resto, los PH circulantes fue muy similar y únicamente hubo diferencia en las CMN basales de los movilizados con G-CSF ante Cy-G ( $p=0,001$ )(tabla 57 y figura 54).



**Tabla 57: Comparación de progenitores hematopoyéticos totales circulantes pre-aféresis según el esquema de movilización en EH.**

Movilización	Cy-G (n=29)	P*	QMT-G (n=3)	P**	G-CSF (n=16)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	42,0±16,1	NS	138,2±221,5	NS	32,7±7,0	NS
CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	4,8±1,1	NS	10,4±5,8	NS	6,9±1,5	NS
CMN (x10 <sup>9</sup> )	7,1±0,7 <sup>a</sup>	NS	8,5±5,8	NS	11,4±1,1 <sup>a</sup>	0,001
BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	5,6±1,8	NS	ND	NS	1,4±0,8	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	4,5±1,9	NS	ND	NS	7,4±2,0	NS

**VALOR (media +/- error estándar de la media) x10<sup>5</sup>**

P\*: comparación Cy-G con QMT-G. P\*\*: comparación QMT con G-CSF.  
P\*\*\*: comparación Cy-G con GCS-F. NS. No significativo. ND: sin datos

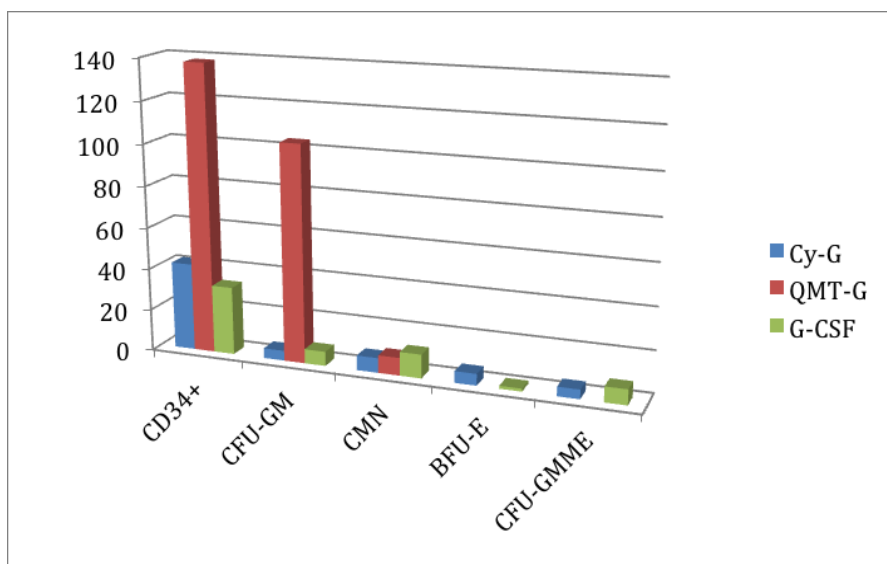


Figura 54: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos basales dividido según la movilización realizada en EH.

Prácticamente no hubo diferencias en los PH obtenidos en las aféresis en ninguno de los grupos estudiados y únicamente en las CMN presentaron cifras más altas los movilizados con G-CSF frente a los otros dos grupos (en el resto de PH este grupo obtuvo las cifras más bajas)(tabla 58 y figura 55).

En cuanto a las recuperaciones de CD34<sup>+</sup>, los pacientes con EH movilizados con QMT-G obtuvieron cifras bastante bajas, del 27,6 y 40% en la primera y segunda bolsa respectivamente pero sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas probablemente, como ya hemos dicho al tener únicamente tres aféresis en este grupo. En el resto, se consiguen más del 100% en todas las células y grupos y hasta más de ocho veces en las CFU-GMME en los movilizados con Cy-G (tabla 58).

**Tabla 58: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según el esquema de movilización y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de EH**

Movilización			Cy-G (n=29)	P*	QMT-G (n=3)	P**	G-CSF (n=16)	P ***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	56,4±25,6	NS	58,2±56,0	NS	27,3±5,1	NS
		Rec.(%)	127,6±40,1	NS	27,6±8,0	NS	95,4±14,8	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	11,8±7,1	NS	12,7±12,6	NS	10,5±3,2	NS
		Rec.(%)	119,4±18,7	NS	269,1±93,8	NS	243,8±74,1	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	7,5±2,2	NS	ND	-	2,5±0,8	NS
		Rec.(%)	202,8±58,2	-	ND	-	98,2±59,3	NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	12,2±4,4	-	ND	-	6,6±2,2	NS
		Rec.(%)	466,0±137,3	-	ND	-	149,5±91,8	
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	6,6±0,8	NS	7,4±4,5	NS	10,2±1,1	0,014
		Rec.(%)	90,8±6,3	NS	151,6±33,3	NS	93,5±8,3	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	44,7±14,6	NS	44,1±38,8	NS	29,1±4,4	NS
		Rec.(%)	120,6±11,4	0,033	40,0±9,5	0,050	123,9±16,8	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	4,1±1,5	NS	11,5±11,3	NS	6,2±2,0	NS
		Rec.(%)	260,1±93,8	NS	110,0±50,0	NS	286,3±76,3	-
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	11,4±5,4	-	ND	-	3,8±2,2	NS
		Rec.(%)	235,4±90,3	-	ND	-	206,7±176,2	NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	30,0±18,3	-	ND	-	13,9±5,7	NS
		Rec.(%)	841,5±472,0	-	ND	-	468,5±365,6	NS
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	13,1±4,9	NS	6,8±3,5	0,026	12,3±0,8	NS
		Rec.(%)	151,6±33,2	NS	105,2±23,3	NS	116,5±9,0	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Recup. %, porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación Cy-G con GCS-F

## RESULTADOS

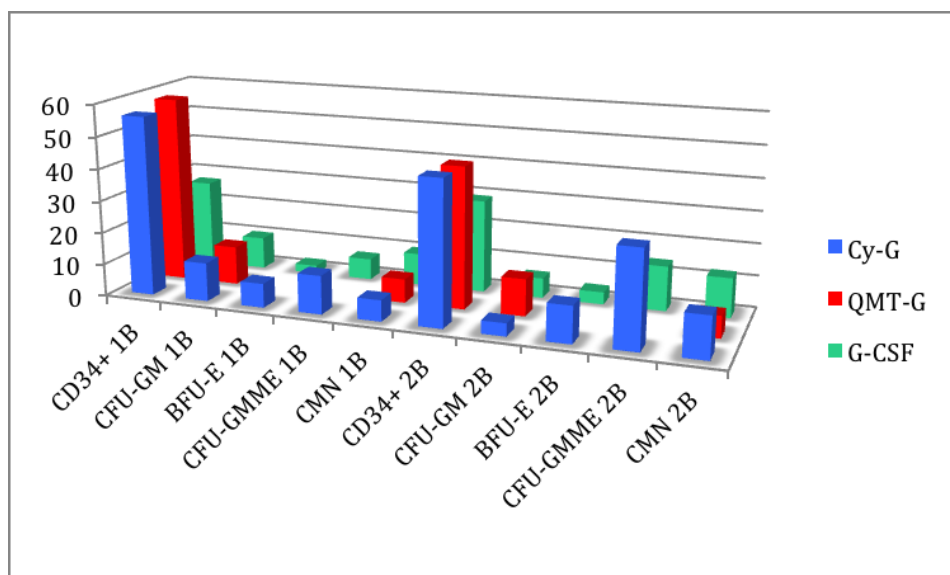


Figura 55: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos recogidos en las aféresis dividido según la movilización realizada en EH.

Estudiamos las  $CD34^+$ /kg circulantes y en ambas bolsas en los pacientes con EH según la movilización utilizada (tabla 59 y figura 56).

**Tabla 59:  $CD34^+$  ( $nx10^6$ /kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la movilización en EH.**

$CD34^+$ ( $nx10^6$ /kg)	Cy-G (n=29)	QMT-G (n=3)	G-CSF (n=16)
<b>Circulantes</b>	0,6±0,2	2,1±1,8	0,5±0,1
<b>Primera bolsa</b>	0,7±0,3	0,9±0,8	0,5±0,1
<b>Segunda bolsa</b>	0,6±0,2	0,7±0,6	0,5±0,1
<b>Total bolsas</b>	<b>1,4±0,5</b>	<b>1,5±1,4</b>	<b>0,9±0,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

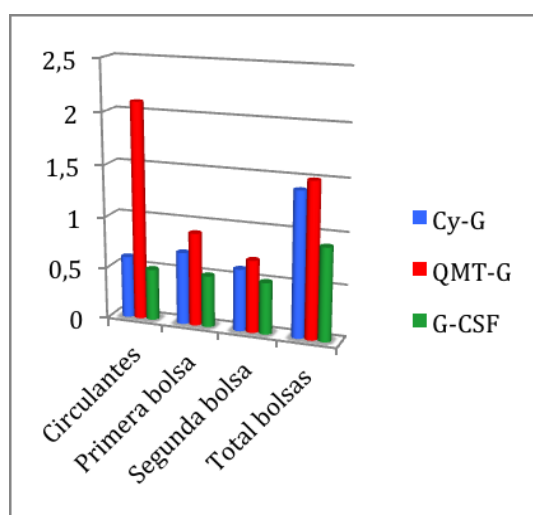


Figura 56:  $CD34^+$  ( $nx10^6$ /kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en EH.

### 2.4.5 REPERCUSIÓN DE LA SITUACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En el grupo de los pacientes con enfermedad de Hodgkin se realizaron 48 aféresis, 22 a pacientes en RC, 21 en RP y 5 en progresión. No pudimos comparar las BFU-E ni las CFU-GMME al no tener ningún resultado en los grupos de RC y progresión.

Obtuvimos los datos absolutos en el paciente antes de iniciar la aféresis del recuento de CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-GM, colonias mixtas y CMN. Los valores más altos de CD34<sup>+</sup> circulantes se observaron en el grupo en RC aunque sin diferencias estadísticamente significativas (tabla 60, figura 57).

**Tabla 60: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en EH.**

Situación clínica	RC (n=22)	P*	RP (n=21)	P**	PROG. (n=5)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	63,1±25,9	NS	28,4±6,5	NS	35,3±28,8	NS
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	5,6±1,4	NS	6,7±1,8	0,004	0,8±0,2	NS
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	ND	-	4,3±1,5	-	ND	-
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	ND	-	4,5±1,4	-	ND	-
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	8,7±1,3	NS	8,6±0,8	NS	8,6±2,5	NS
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media )</b>					<b>ND: no datos</b>	
P* comparación RC con RP. P** comparación RC con PROG. P*** comparación RC con PROG						

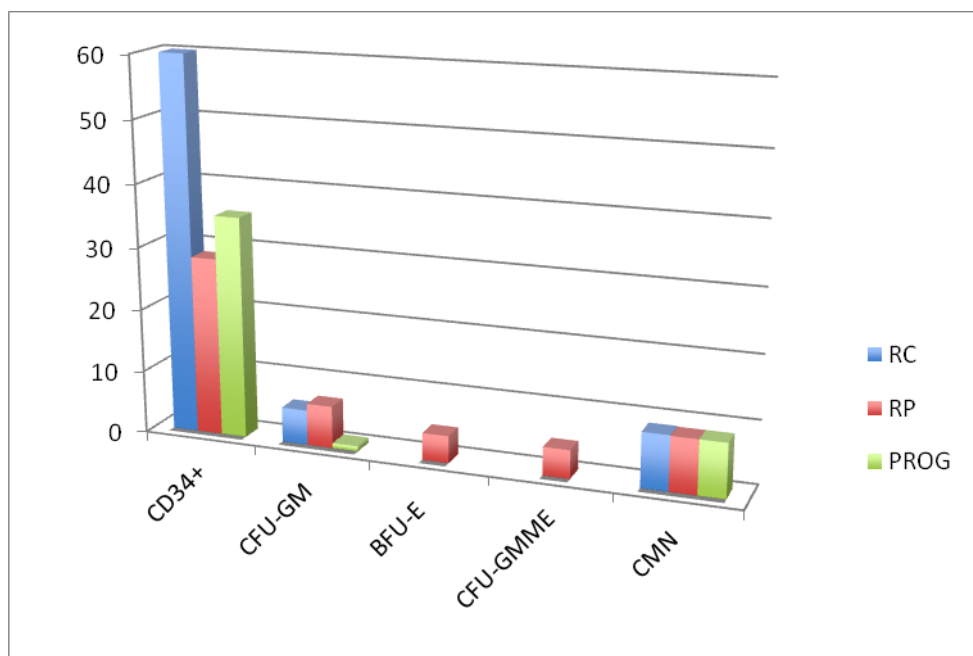


Figura 57: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en EH.

En la tabla 61 y en la figura 58 exponemos los datos obtenidos de CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-GM, mixtas y CMN tanto en la primera bolsa (tras dos volemias a mitad de la aféresis) como en la segunda bolsa (tras 4 volemias) en las aféresis realizadas en RC, RP y progresión, no encontrándose diferencias significativas entre ellos en la cantidad de células ni en el porcentaje de recuperación de las mismas.

**Tabla 61: Situación clínica en el momento de la aféresis : Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa, expresados como cantidad total y como porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis, en el grupo EH.**

Situación clínica			RC (n=22)	P*	RP (n=21)	P**	PROG. (n=5)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	45,0±18,4	NS	54,2±34,5	NS	29,0±22,3	NS
		Rec.(%)	79,0±10,7	NS	149,0±59,2	NS	98,2±16,6	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	9,6±3,0	NS	16,4±10,1	NS	2,2±1,5	NS
		Rec.(%)	149,8±11,5	NS	177,9±67,1	NS	186,8±93,1	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	ND	-	6,0±1,8	-	ND	-
		Rec.(%)	ND	-	182,5±55,9	-	ND	-
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	ND	-	10,4±3,5	-	ND	-
		Rec.(%)	ND	-	399,5±112,3	-	ND	-
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	6,2±1,4	NS	9,0±0,9	NS	9,8±2,4	NS
		Rec.(%)	70,5±5,6	<0,001	107,1±6,1	NS	118,1±10,3	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	46,7±18,0	NS	33,0±9,1	NS	31,0±22,3	NS
		Rec.(%)	113,7±16,5	NS	116,4±12,1	NS	121,4±26,8	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	5,9±2,0	NS	4,1±1,7	NS	10,0±7,2	NS
		Rec.(%)	148,0±1,7	NS	258,6±72,0	NS	740,2±459,4	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	ND	-	8,9±4,2	-	ND	-
		Rec.(%)	ND	-	211,8±84,1	-	ND	-
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	ND	-	26,6±13,8	-	ND	-
		Rec.(%)	ND	-	810,2±372,1	-	ND	-
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	7,9±1,1	NS	17,5±7,0	NS	11,9±3,1	NS
		Rec.(%)	95,5±4,3	NS	179,8±47,3	NS	142,0±9,9	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec. %), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación Cy-G con GCS-F. ND.no datos

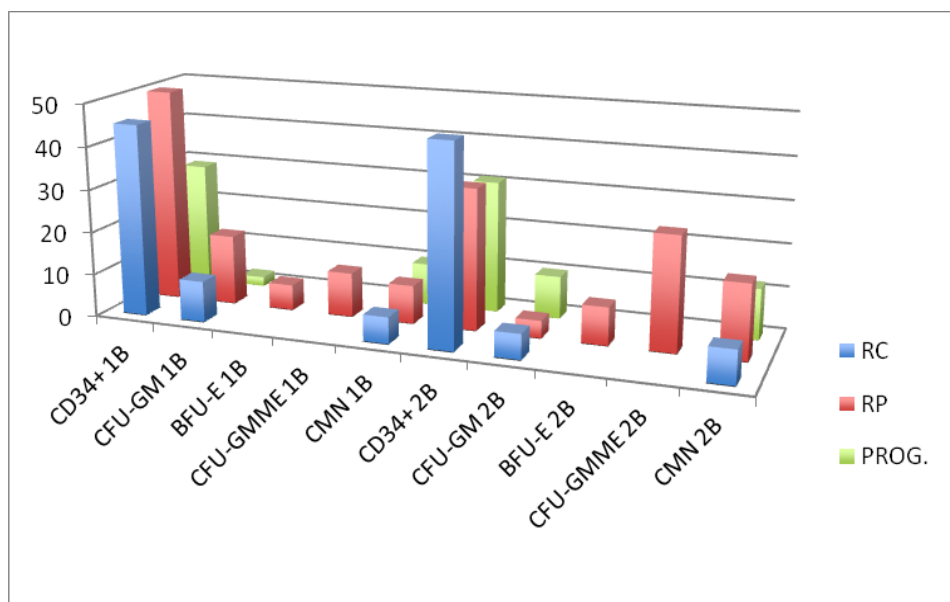


Figura 58: Comparación de progenitores hematopoyéticos en la primera y segunda bolsa según la situación clínica del paciente en EH.

En las aféresis de los pacientes en RC encontramos una media (calculada) de células CD34<sup>+</sup> circulantes pre-aféresis de  $1 \times 10^6/\text{Kg}$ . En RP esta cifra fue de  $0,4 \times 10^6/\text{Kg}$ , y de  $0,5 \times 10^6/\text{Kg}$  en aquellos en progresión (tabla 62 y figura 59).

**Tabla 62: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total según la situación clínica en EH.**

CD34 <sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ )	RC (n=22)	RP (n=21)	PROG. (n=5)
<b>Circulantes</b>	1,0±0,4	0,4±0,1	0,5±0,4
<b>Primera bolsa</b>	0,7±0,3	0,7±0,4	0,4±0,3
<b>Segunda bolsa</b>	0,7±0,2	0,4±0,1	0,4±0,3
<b>Total bolsas</b>	<b>1,4±0,5</b>	<b>1,2±0,4</b>	<b>0,9±0,6</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

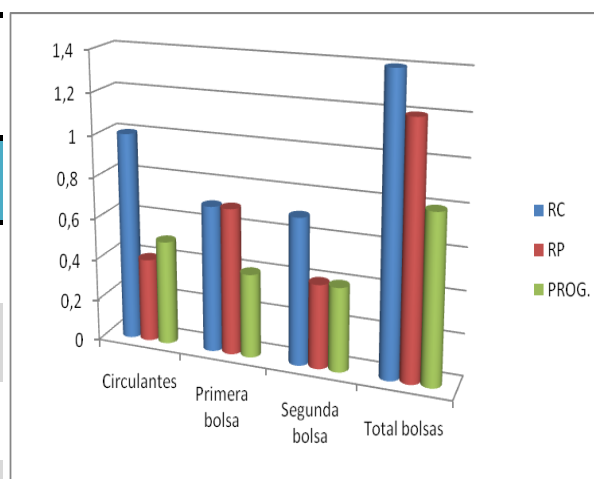


Figura 59: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la situación clínica en EH.

#### 2.4.6 REPERCUSIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En el grupo de pacientes con EH que habían recibido una línea de tratamiento previa se realizaron 8 aféresis, en los que habían recibido dos líneas de tratamiento se hicieron 22 y en aquellos con tres o más líneas de tratamiento previas se hicieron 18 aféresis.

En estos pacientes no pudimos comparar los progenitores BFU-E y CFU-GMME ya que o el número a comprar era insuficiente para realizar los estudios o no había ningún dato a analizar.

En este grupo de aféresis los peores resultados de CD34+ basales se encontraron en los más tratados, con diferencias significativas respecto a los menos tratados (uno o dos líneas). Curiosamente, aquí los pacientes con una sola línea de tratamiento no fue el grupo con mayor celularidad. Los CD34+ más altos correspondió al grupo de 2 líneas de tratamiento (tabla 63 y figura 60).

**Tabla 63: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo de EH.**

Nº líneas de tratamiento	1 (n=8)	P*	2 (n=22)	P**	≥3 (n=18)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	46,6±17,9	NS	63,6±25,9	0,001	21,2±3,4	<0,001
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	5,8±2,0	NS	7,2±2,0	0,001	4,5±0,7	<0,001
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	7,2±4,0	-	ND	-	3,3±1,3	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	13,7±2,4	-	ND	-	3,3±0,7	NS
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	8,2±0,8	NS	8,9±1,4	NS	3,9±1,3	NS
<b>VALOR (media +/- error estándar d ela media)</b>						
P*: comparación 1 línea con 2 líneas. P**: comparación 2 líneas con 3 líneas. P***: comparación 1 línea con 3 líneas.						



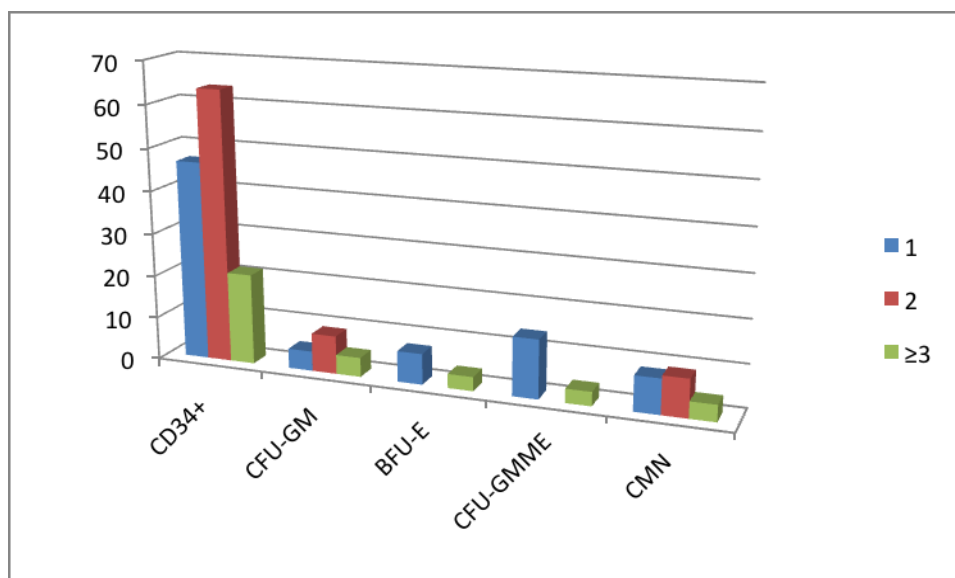


Figura 60: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en EH.

En el estudio de las células totales obtenidas en la aféresis, al igual que en los datos basales, los peores resultados con respecto a las CD34<sup>+</sup> ocurrieron en los tratados con tres o más líneas ( $18,5 \times 10^6$ ) y con diferencias al compararlos con una ( $35,8 \times 10^6$ ) y dos ( $74,1 \times 10^6$ ). Sin embargo, las CMN mayores fueron en los más tratados.

Así apreciamos que la mayor diferencia de recogida en las bolsas estuvo en el límite de dos tratamientos, y en el grupo de más líneas recibidas fue donde se registraron las peores recogidas de progenitores hematopoyéticos (tabla 64 y figura 61).

La recuperación celular, estuvo alrededor del 100% independientemente de los tratamientos recibidos, y no encontramos diferencias estadísticamente significativas al realizar las comparaciones.

Como en los otros grupos, la recuperación de CD34<sup>+</sup> se situó entorno al 100%, alcanzándose la máxima recuperación en las CFU-GM, que fue de más de cuatro veces las basales del paciente en los más tratados, tanto en la primera como en la segunda bolsa (tabla 64).

**Tabla 64: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según las líneas de tratamiento previas y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de EH.**

Líneas (N)		1 (n=8)	P*	2 (n=22)	P**	3 (n=18)	P***	
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	35,8±11,1	NS	74,1±33,7	0,016	18,5±3,4	0,003	
		Rec.(%)	88,2±17,1	NS	134,0±54,3	NS	92,1±11,4	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	5,6±2,7	0,015	17,2±9,4	NS	7,0±2,8	NS	
		Rec.(%)	153,2±17,6	NS	155,1±19,2	NS	187,9±74,9	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	4,3±0,3	-	ND	-	6,1±2,0	0,016	
		Rec.(%)	108,3±51,2	-	ND	-	199,4±59,5	NS
	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	11,8±3,8	-	ND	-	9,8±3,7	NS	
		Rec.(%)	81,3±17,4	-	ND	-	427,1±119,2	0,049
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	5,9±1,5	NS	7,6±1,1	NS	9,1±1,0	NS	
		Rec.(%)	66,9±15,3	NS	88,6±5,9	NS	107,9±18,8	NS
	2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	41,1±20,9	NS	53,8±18,1	0,003	21,2±3,4c	0,016
			Rec.(%)	99,3±19,1	NS	127,3±16,0	NS	111,4±12,7
CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )		1,7±1,0	NS	8,3±2,4	0,018	3,0±1,4	NS	
		Rec.(%)	168,2±45,7	NS	291,1±123,1	NS	276,1±80,2	NS
BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )		14,8±7,9	-	ND	-	7,0±4,1	NS	
		Rec.(%)	271,9±147,8	-	ND	-	213,6±94,0	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		31,5±21,3	-	ND	-	22,3±14,3	NS	
		Rec.(%)	200,0±108,6	-	ND	-	846,9±405,7	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		9,2±1,7	NS	9,2±1,2	NS	17,8±7,8	NS	
		Rec.(%)	107,2±13,2	NS	111,7±6,8	NS	107,9±18,8	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec. (%) porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis P\* : comparación 1 línea con 2 líneas. P\*\* : comparación 2 líneas con 3 líneas. P\*\*\* : comparación 1 línea con 3 líneas.

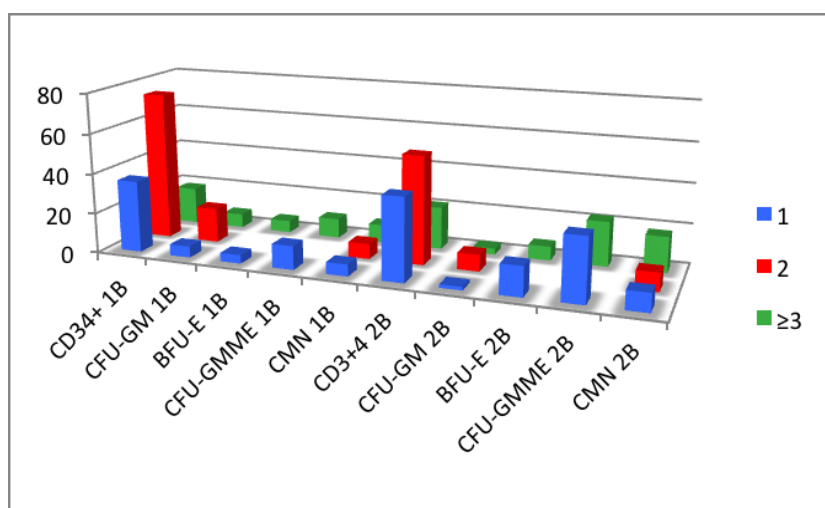


Figura 61: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN totales obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, en función al número de tratamientos previos recibidos en EH.

## RESULTADOS

Las CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes antes de cada una de las aféresis en los pacientes que habían recibido una o dos líneas de tratamiento previas fue mayor que en el caso de los que habían recibido tres o más líneas; presentando los mejores resultados el grupo que había recibido dos líneas (tabla 65, figura 62).

**Tabla 65: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en EH.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	1 (n=8)	2 (n=22)	≥ 3 (n=18)
<b>Circulantes</b>	0,9±0,4	0,9±0,4	0,3±0,0
<b>Primera bolsa</b>	0,7±0,2	1,0±0,4	0,3±0,0
<b>Segunda bolsa</b>	0,8±0,2	0,8±0,2	0,3±0,0
<b>Total bolsas</b>	<b>1,4±0,4</b>	<b>1,7±0,6</b>	<b>0,6±0,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

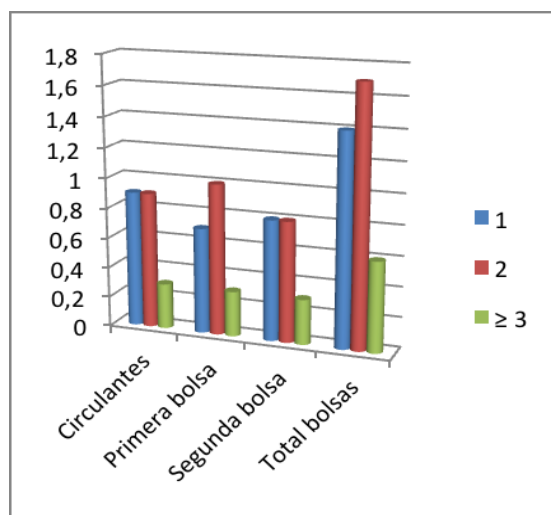


Figura 62: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en EH.

## 2.5 LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

A los 10 pacientes con LLC se les realizó un total de 23 aféresis. Podemos ver las descripción es de datos demográficos y de su patología en el apartado 1. A continuación describimos los datos correspondientes a parámetros hematológicos, progenitores hematopoyéticos y aféresis.

### 2.5.1 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES CIRCULANTES

Las CD34<sup>+</sup> circulantes previas al inicio de la aféresis fue mayor que la existente a mitad de la misma, con significación estadística al contrario que en las CMN (tabla 66).

**Tabla 66: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de LLC.**

	CMNT (x10 <sup>9</sup> )	CD34 <sup>+</sup> (x10 <sup>6</sup> )	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )
Pre-aféresis	9,9±3,3	40,1±9,3	6,8±3,1	7,3±2,4	14,6±6,4
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	10,0±2,2*	29,9±8,3*	13,3±5,1	ND	ND

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)

### 2.5.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

El número de células CD34<sup>+</sup> y CMN recogidas en la 2ª bolsa fue mayor que en la primera, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Las CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME fueron menores en la segunda bolsa, aunque sin alcanzar significación estadística (tabla 67 y figura 63).

La recuperación (calculadas como porcentaje de las totales basales circulantes) de CD34<sup>+</sup> y CMN fue mayor en la segunda con respecto a la primera, como ocurría en las células totales, alcanzando significación estadística solamente la recuperación de CMN (p=0,002) (tabla 67). Respecto a las CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME que se obtuvo un menor número de células totales en la segunda bolsa, sin embargo, el porcentaje de la recuperación fue mayor en esta bolsa que en la primera.

La recuperación en el total (ambas bolsas) fue de más del 200% en todas las células, desde el 201,4% de las CD34<sup>+</sup> al 854,6% en las CFU-GMME.

## RESULTADOS

**Tabla 67: LLC: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	35,8±9,8	NS	41,3±9,4	77,0±18,8
	Rec.(%)	95,0±13,3	NS	106,4±12,1	201,4±22,4
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	10,7±3,7	NS	9,4±3,0	10,8±3,1
	Rec.(%)	187,8±40,1	NS	293,4±76,7	525,2±136,7
BFU-E	(nx10 <sup>5</sup> )	10,2±4,6	NS	14,6±4,4	24,8±8,5
	Rec.(%)	197,2±55,0	NS	506,5±223,1	703,7±272,5
CFU-GMME	(nx10 <sup>5</sup> )	22,9±9,2	NS	19,3±5,7	42,2±11,4
	Rec.(%)	318,2±113,3	NS	536,4±204,7	854,6±306,7
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	12,2±2,8	0,006	14,7±3,0	26,9±5,8
	Rec.(%)	99,0±5,7	0,002	133,1±11,5	232,0±15,7

Media± error estándar de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
Rec.(%): porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

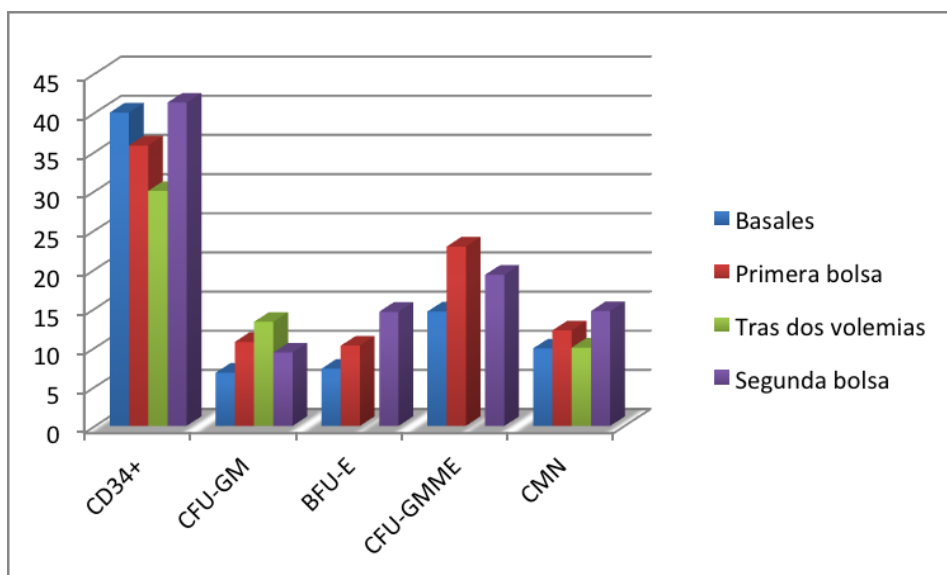


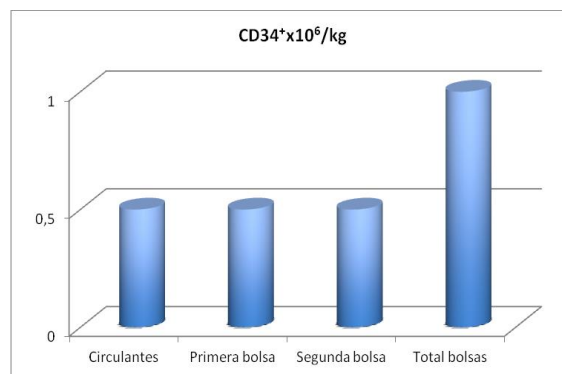
Figura 63: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente y en las bolsas de aféresis en el grupo de LLC inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemias (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda).

### 2.5.3 DATOS DE LAS CD34<sup>+</sup>/KG CIRCULANTES Y EN CADA UNA DE LAS BOLSAS DE AFÉRESIS

El grupo de aféresis realizado en pacientes con LLC fue media de  $0,5 \times 10^6/\text{kg}$ , pero su recuperación fue del 100% en cada una de las bolsas y un 200% en el total (tabla 68 y figura 64).

**Tabla 68: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

CD34 <sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ )	
Circulantes	$0,5 \pm 0,1$
Primera bolsa	$0,5 \pm 0,1$
Segunda bolsa	$0,5 \pm 0,1$
Total bolsas	$1,0 \pm 0,2$
Media $\pm$ error estándar de la media	



**Figura 64: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

En los pacientes con LLC únicamente se realizaron tres aféresis tras la movilización con G-CSF, no encontrándose diferencia, en la eficacia de la aféresis, con las 20 aféresis realizadas tras movilización con Cy-G.

### 2.5.4 REPERCUSIÓN DE LA SITUACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En el grupo de LLC no teníamos ningún paciente en progresión por lo que sólo comparamos remisión completa versus respuesta parcial.

Obtuvimos los datos absolutos en el paciente antes de iniciar la aféresis del recuento de CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-GM, colonias mixtas y CMN (tabla 69, figura 65).

## RESULTADOS

En las aféresis realizadas a pacientes con LLC, las CD34<sup>+</sup> basales fueron más altas en el grupo RC frente al de RP, aunque sin llegar a ser estadísticamente significativas. Únicamente en las BFU-E se obtuvo diferencia a favor del grupo de RC ( $16,3 \times 10^5$  vs.  $4,2 \times 10^5$ ).

**Tabla 69: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en LLC.**

Situación clínica	RC (n=8)	RP (n=15)	p
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	154,6±57,5	29,2±4,4	0,344
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	50,5±28,5	23,0±16,3	0,501
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	16,3±1,4	4,2±1,9	0,004
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	34,4±19,3	8,0±4,1	0,395
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	15,3±7,6	12,5±3,3	0,780

**VALOR (media +/- error estándar de la media)**

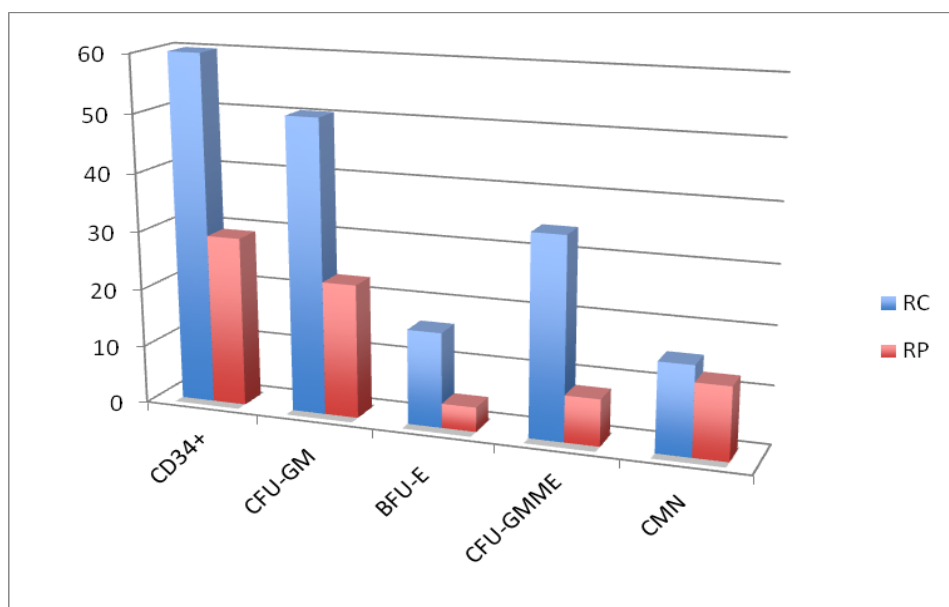


Figura 65: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en LLC (se ha acotado el valor de C34<sup>+</sup> del grupo de RC).

En las aféresis sólo se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en las CFU-GM obtenidas tanto en la 1ª como en la 2ª bolsa cuando se compararon las aféresis

realizadas en RC y RP. La media de células CD34<sup>+</sup> obtenidas tanto en la primera como en la 2ª bolsa en las aféresis realizadas a pacientes en remisión completa fue mucho mayor que la de los de RP (150,5 vs. 24,9 x 10<sup>6</sup>±4,3 y 146 x 10<sup>6</sup> vs. 31.1 x 10<sup>6</sup>)(tabla 70 y figura 66).

Como en los restantes grupos, continuamos viendo una muy buena recuperación en todos los progenitores hematopoyéticos, tanto en RC como en RP con cerca del 100% en las CD34<sup>+</sup> de ambas bolsas y con hasta 5-6 veces las basales en BFU-E y CFU-GMME (tabla 70).

**Tabla 70: Situación clínica en el momento de la aféresis : Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa, expresados como cantidad total y como porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis, en el grupo LLC.**

Situación clínica			RC (n=8)	RP (n=15)	P
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	150,5±75,7	24,9±4,3	NS
		Rec. (%)	91,8±14,8	95,2±14,5	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	39,5±30,5	50,8±15,1	0,003
		Rec. (%)	507,3±485,7	215,2±55,0	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	25,0±15,0	5,3±2,4	NS
		Rec. (%)	162,8±106,2	208,7±69,2	NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	55,1±25,0	12,2±4,9	NS
		Rec. (%)	174,5±25,6	366,1±148,7	NS
CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	13,1±7,9	12,1±3,1	NS	
	Rec. (%)	89,6±7,9	99,8±6,2	NS	
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	146,0±61,0	31,3±5,6	NS
		Rec. (%)	92,5±5,0	107,8±13,3	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	12,5±7,5	6,8±2,1	0,003
		Rec. (%)	231,7±231,7	254,8±48,9	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	23,7±6,0	11,5±5,1	NS
		Rec. (%)	149,7±50,4	625,4±285,3	NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	26,7±18,2	16,8±5,8	NS
		Rec. (%)	157,0±141,2	662,8±253,2	NS
CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	16,6±0,6	14,5±3,3	NS	
	Rec. (%)	117,3±17,6	134,6±12,5	NS	

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%,) porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. RC: respuesta completa. RP: respuesta parcial.



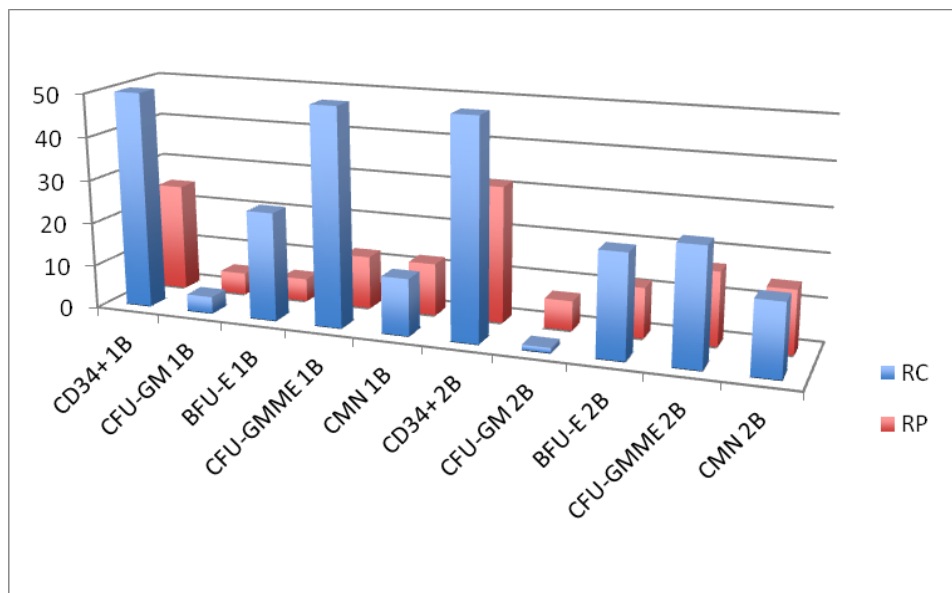


Figura 66: Comparación de progenitores hematopoyéticos en la primera y segunda bolsa según la situación clínica del paciente en LLC.

La media de células CD34<sup>+</sup> circulantes pre-aféresis fue de 1,9x10<sup>6</sup>/Kg en las aféresis realizadas pacientes en RC y de 0,4 x10<sup>6</sup>/Kg en RP, obteniéndose tras completar la aféresis un total de 3,6x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/Kg y de 0,7x10<sup>6</sup> CD34<sup>+</sup>/Kg en RC y RP, respectivamente (tabla 71 y figura 67).

**Tabla 71: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la situación clínica en LLC.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	RC (n=8)	RP (n=15)
<b>Circulantes</b>	1,9±0,7	0,4±0,0
<b>Primera bolsa</b>	1,8±0,9	0,3±0,0
<b>Segunda bolsa</b>	1,7±0,7	0,4±0,1
<b>Total bolsas</b>	<b>3,6±1,7</b>	<b>0,7±0,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>		

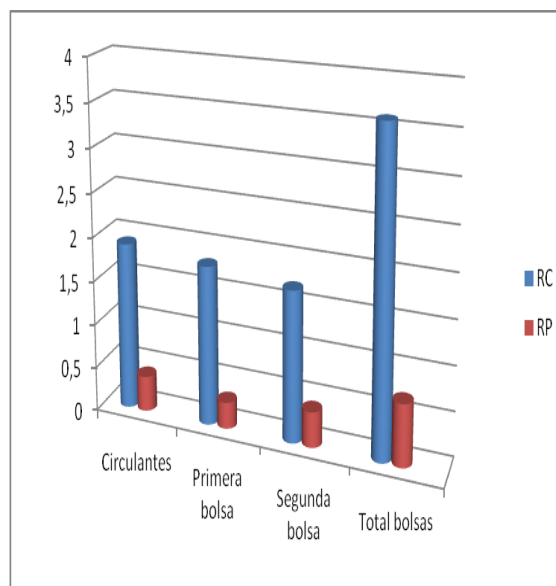


Figura 67: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en LLC.

### 2.5.5 REPERCUSIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En grupo de pacientes con LLC realizamos un total de cinco aféresis a pacientes que habían recibido una línea de tratamiento previa y 18 a aquellos con dos líneas de tratamiento previo. No hubo pacientes que hubiesen recibido más de 3 líneas de tratamiento.

Para las CD34<sup>+</sup>, CFU-GM y CFU-GMME se obtuvieron mayores niveles antes de cada aféresis en los pacientes con una línea de tratamiento previa frente a los que habían recibido 2 líneas, siendo las diferencias estadísticamente significativas. Únicamente el valor basal de CMN fue mayor en los más tratados, pero sin alcanzar significación estadística (tabla 72, figura 68).

**Tabla 72: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo de LLC.**

Nº líneas de tratamiento	1 (n=5)	2 (n=18)	p
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	79,1±35,8	29,3±5,2	0,001
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	20,7±15,1	10,1±3,7	0,062
BFU-E (nx10 <sup>5</sup> )	16,3±1,4	4,2±1,9	0,303
CFU-GMME (nx10 <sup>5</sup> )	34,4±19,3	8,0±4,1	0,006
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	5,7±2,4	11,1±4,1	0,250
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media) x10<sup>5</sup></b>			

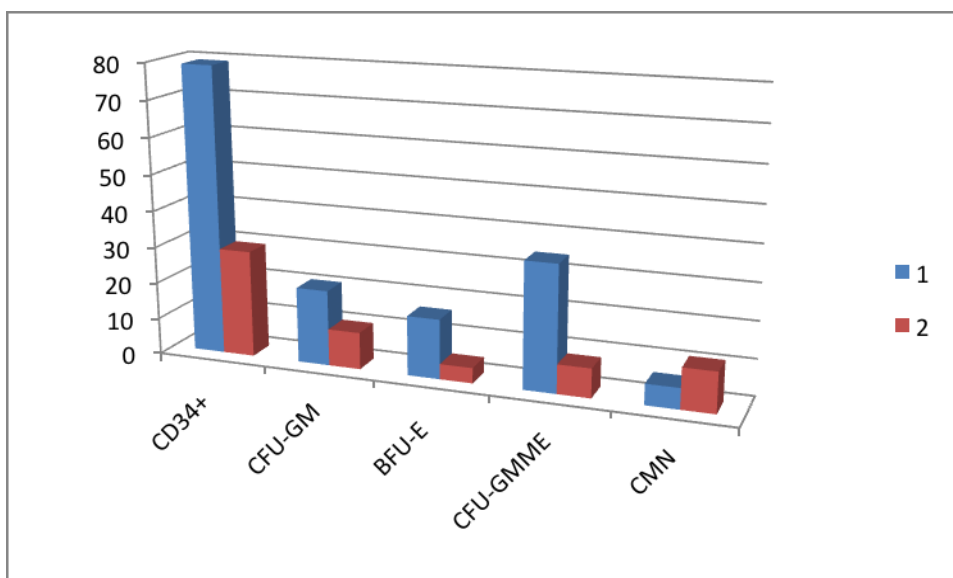


Figura 68: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en LLC.

En las bolsas seguimos viendo mejores resultados en las aféresis realizadas a pacientes menos tratados, con diferencias estadísticas frente a los más tratados para las CD34<sup>+</sup> y CFU-GM recogidas tanto en la 1ª como en la 2ª bolsa. Así las CD34<sup>+</sup> de ambas bolsas consiguió diferencia estadísticamente significativa, al igual que ocurrió con las CFU-GM. En las BFU-E y CFU-GMME aunque también obtuvieron mejores resultados los primeros, no se llegó a diferencias importantes (tabla 73 y figura 69).

Obtuvimos recuperación en torno al 100% en los dos grupos y en todos los PH. La recuperación de las células CD34<sup>+</sup> fue del 90 y 96% en la primera y del 91 y 110% segunda bolsa. En el resto de PH la recuperación fue aún mayor, de hasta 6-7 veces en CFU-GM de la primera bolsa en los tratados con una línea de tratamiento (tabla 73).

**Tabla 73: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según las líneas de tratamiento previas y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de LLC.**

Líneas (N)		1 (n=5)	2 (n=18)	P
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	75,3±39,1	24,8±5,0	0,004
	Rec.(%)	90,7±12,8	96,2±16,8	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	0,15±0,1	5,9±1,7	0,001
	Rec.(%)	649,2±572,8	220,4±58,3	<0,001
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	25,0±15,0	5,3±2,4	0,012
	Rec.(%)	162,8±106,2	208,7±69,2	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		55,1±24,9	12,2±4,9	0,004
	Rec.(%)	174,5±25,7	366,1±148,7	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		11,9±2,1	12,3±3,6	NS
	Rec.(%)	104,±4	97,4±7,1	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	73,4±35,4	32,3±6,4	0,007
	Rec.(%)	91,5±13,8	110,6±15,0	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	0,6±0,5	7,7±2,3	0,006
	Rec.(%)	198,8±137,8	262,9±51,5	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	23,7±6,0	11,5±5,1	NS
	Rec.(%)	149,8±50,4	625,4±285,3	NS
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )		26,7±18,2	16,8±5,8	NS
	Rec.(%)	157,0±141,2	662,8±253,2	NS
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		13,3±2,5	15,0±3,8	NS
	Rec.(%)	116,0±6,5	137,9±14,4	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. 1: una línea de tratamiento. 2: dos líneas de tratamiento.

## RESULTADOS

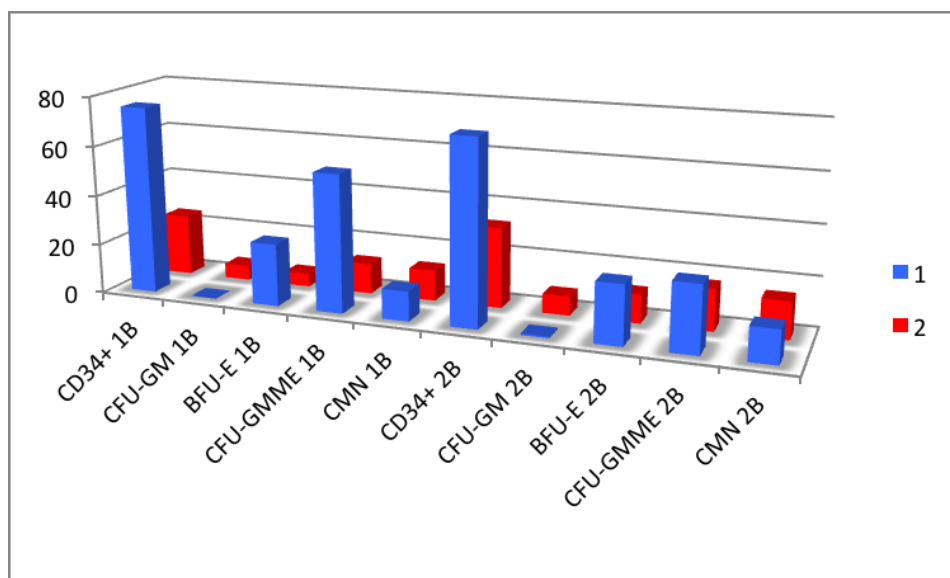


Figura 69: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN totales obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, en función al número de tratamientos previos recibidos en LLC.

Los pacientes que habían recibido una sola línea de tratamiento tenían mayor número de CD34<sup>+</sup>/kg circulantes frente a los que habían recibido 2 líneas ( $1,0 \times 10^6/\text{kg}$  en los casos que habían recibido una línea de tratamiento previa y  $0,4 \times 10^6/\text{kg}$  en los que habían recibido dos líneas). obteniéndose, diferencias importantes a favor de los menos tratados (tabla 74, figura 70).

**Tabla 74: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en LLC.**

CD34 <sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ )	1 (n=5)	2 (n=18)
Circulantes	$1,0 \pm 0,4$	$0,4 \pm 0,1$
Primera bolsa	$1,0 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,1$
Segunda bolsa	$0,9 \pm 0,4$	$0,4 \pm 0,1$
Total bolsas	$1,9 \pm 0,9$	$0,7 \pm 0,1$
<b>Media <math>\pm</math> error estándar de la media</b>		

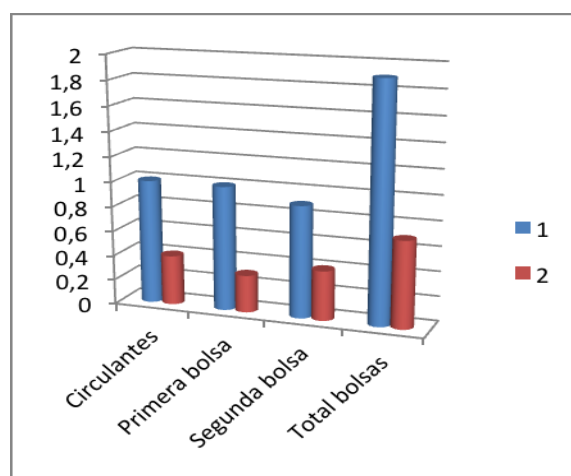


Figura 70: CD34<sup>+</sup> ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en LLC.

## 2.6 LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

A los 16 pacientes con LMA se les realizó 43 aféresis cuyas características de edad, situación clínica y líneas de tratamiento recibidas han sido descritas en el apartado 1.

### 2.6.1 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES CIRCULANTES

Encontramos una disminución de las células CD34<sup>+</sup> circulantes tras el procesamiento de las dos primeras volemias que alcanzabas la significación estadística, mientras que por el contrario, las CMNT y las CFU-GM aumentaban también alcanzando las significación estadística en ambas (tabla 75).

**Tabla 75: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de LMA.**

	CMNT (x10 <sup>9</sup> )	CD34 <sup>+</sup> (x10 <sup>6</sup> )	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )
Pre-aféresis	5,8±1,0	47,3±7,5	4,6±1,9	4,5±1,4	5,1±1,3
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	8,0±0,7*	32,3±5,4*	23,0±12,4*	ND	ND

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)

### 2.6.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

No se encontró diferencia significativa entre las células obtenidas en las dos bolsas, excepto en las CMN de la segunda frente a las de la primera bolsa. ( tabla 76, figura 71).

Hablamos de recuperación como el porcentaje de las totales basales circulantes Aunque en este grupo la recuperación fue buena, en las CD34<sup>+</sup> no se llegó al 200% en el total de las aféresis, al igual que las CMN quedando en 190,1 y 193,5 respectivamente. El resto de células si obtuvieron una recuperación de más de 5 veces las cifras basales aunque en ninguna de ellas se llegó a una significación estadística, excepto en las CMN (p<0,001) (tabla 76 y figura 71).

**Tabla 76: LMA: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	37,8±7,0	NS	44,4±6,6	82,2±12,5
	Rec.(%)	88,1±6,9	NS	102,8±8,0	190,1±11,7
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	8,2±2,0	NS	8,5±1,8	23,0±8,4
	Rec.(%)	318,5±56,8	NS	200,6±38,5	516,7±180,8
BFU-E	(nx10 <sup>5</sup> )	6,7±1,4	NS	13,3±3,7	20,6±4,6
	Rec.(%)	315,7±78,5	NS	794,5±342,5	1110,2±404,2
CFU-GMME	(nx10 <sup>5</sup> )	9,1±2,1	NS	12,1±2,7	21,9±4,6
	Rec.(%)	362,6±148,4	NS	444,4±159,1	807,0±300,1
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	8,2±0,8	0,006	10,0±1,08	18,2±1,8
	Rec.(%)	87,3±4,2	<0,001	106,18±5,8	193,5±11,7

Media± error estándar de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
 Rec.(%) porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

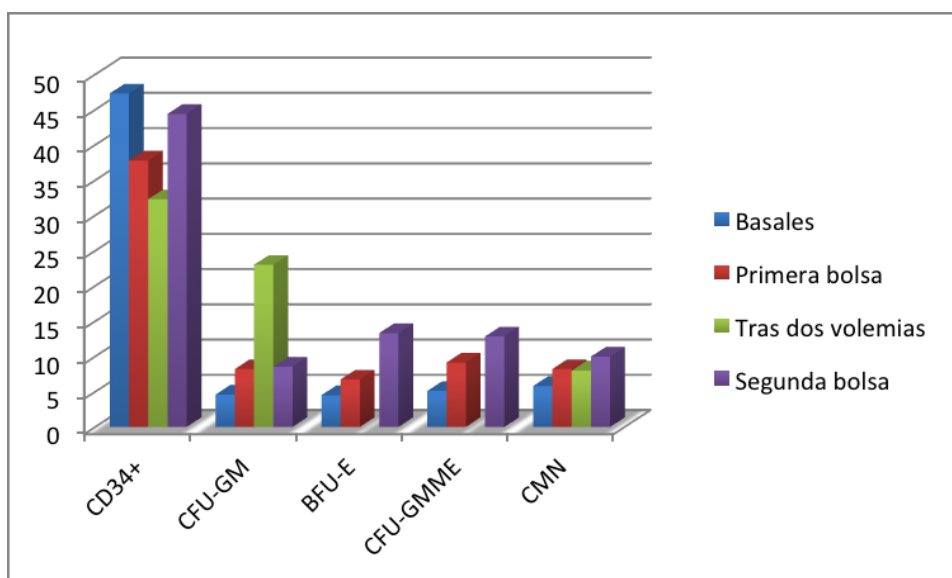


Figura 71: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente y en las bolsas de aféresis en el grupo de LMA inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemias (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda).

**2.6.3 DATOS DE LAS CD34<sup>+</sup>/KG CIRCULANTES Y EN CADA UNA DE LAS BOLSAS DE AFÉRESIS**

La cantidad de células CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes pre-aféresis calculada así como las obtenías en las aféresis se muestran en la tabla 77 y gráfica 72.

**Tabla 77: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

	CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)
Circulantes	0,7±0,1
Primera bolsa	0,6±0,1
Segunda bolsa	0,7±0,1
Total bolsas	1,3±0,2
<b>Media± error estándar de la media</b>	

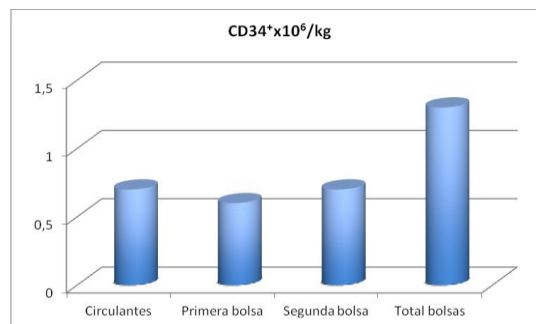


Figura 72: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.

**2.6.4 REPERCUSIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS**

Estudiamos los PH tanto circulantes como en las bolsas de aféresis en los pacientes diagnosticados de LMA en función al agente movilizador utilizado para el procedimiento.

Las cifra basales de PH fueron similares en los tres grupos, así en las CD34+ no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, aunque las más altas correspondieron a los movilizados con G-CSF. Si se vieron diferencias estadísticamente significativas en las CMN a favor de G-CSF frente a Cy-G y QMT-G y de Cy-G frente a QMT (tabla 81 y figura 76).



**Tabla 78: Comparación de progenitores hematopoyéticos totales circulantes pre-aféresis según el esquema de movilización en LMA.**

Movilización	Cy-G (n=25)	P*	QMT-G (n=12)	P**	G-CSF (n=6)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	40,3±9,1	NS	55,4±16,3	NS	60,6±21,5	NS
CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	13,7±8,5	NS	9,5±3,8	NS	2,6±0,8	NS
CMN (x10 <sup>9</sup> )	10,2±1,0	0,021	6,3±1,0	0,029	15,7±3,1	0,038
BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	3,2±1,1	-	ND	-	4,7±3,8	-
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	5,1±1,5	-	ND	-	2,0±1,2	-
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media)</b>						
P* : comparación Cy-G con QMT-G. P** : comparación QMT con G-CSF. P*** : comparación Cy-G con GCS-F. NS. No significativo. ND: sin datos						

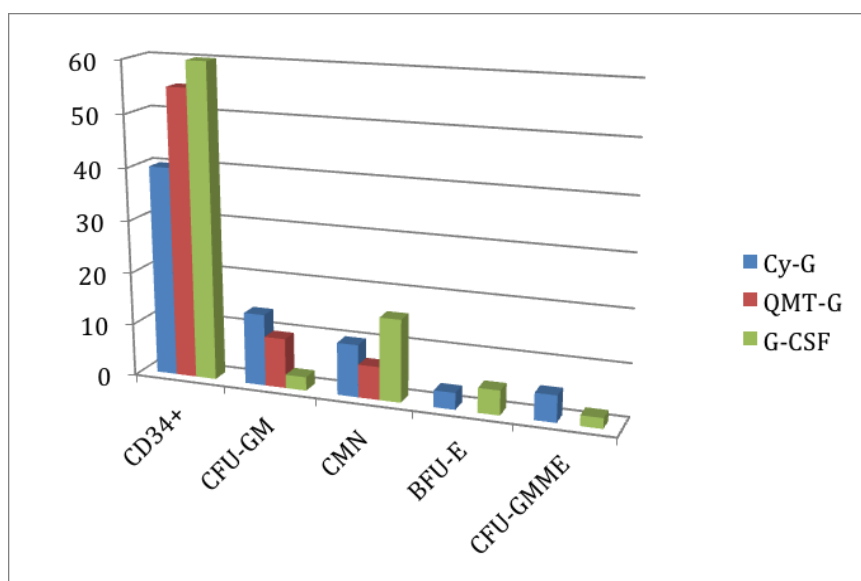


Figura 73: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos basales dividido según la movilización realizada en LLC.

El resultado de las células obtenidas en las aféresis se muestran en la tabla 79 y en le figura 74. Las diferencias significativas se obtuvieron, en las CMN de ambas bolsas, las de la primera de Cy-G frente a QMT-G y en la segunda G-CSF frente a QMT-G. También hubo diferencia ( $p=0,03$ ) en las BFU-E de la segunda bolsa de G-CSF frente a Cy-G. Las CD34<sup>+</sup> más altas se vieron en el grupo de G-CSF y las más bajas en el de QMT-G.

En las recuperaciones de las CD34<sup>+</sup> solo llegó a más del 100% en la segunda bolsa de los movilizados con Cy-G, en el resto osciló entre el 46,8% de la segunda bolsa del grupo de G-CSF y el 96,6% de la primera bolsa de los movilizados con Cy-G.

La recuperación del resto de progenitores si que superó el 100% llegando a más del 700% en las BFU-E de la segunda bolsa del grupo de Cy-G (taba 79).

**Tabla 79: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según el esquema de movilización y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de LMA.**

Movilización		Cy-G (n=25)	P*	QMT-G (n=12)	P**	G-CSF (n=6)	P ***	
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	32,5±8,1	NS	34,7±10,5	NS	65,9±30,0	NS
		Rec. (%)	96,6±9,8	NS	73,2±10,9	NS		NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	15,1±7,4	NS	5,5±3,3	NS	11,3±9,7	NS
		Rec.(%)	121,5±43,4	NS	216,8±87,9	NS		NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	5,9±1,7	--	ND	--	11,3±1,1	NS
		Rec.(%)	336,2±88,9	---	ND	--		NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	11,3±2,4	--	ND	--	3,4±3,0	NS
		Rec.(%)	458,0±179,4	--	ND	--		NS
2ª bolsa	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	8,7±1,1	0,004	4,8±0,6	NS	13,0±1,9	NS
		Rec.(%)	86,1±4,3	NS	87,5±6,2	NS		NS
	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	42,0±7,5	NS	48,3±16,4	NS	46,8±18,3	NS
		Rec.(%)	117,7±10,9	NS	86,2±10,9	NS		NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	14,2±8,4	NS	6,0±2,6	NS	6,2±3,0	NS
		Rec.(%)	248,0±160,4	NS	578,9±358,2	NS		NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	10,0±2,7	--	ND	0,036	30,1±14,1	0,030
		Rec.(%)	714,9±376,3	--	ND	--		NS
CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	11,3±3,5	--	ND	--	8,4±2,7	NS	
	Rec.(%)	475,9±197,2	--	ND	--		NS	
CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	11,3±1,7	NS	5,8±0,8	0,001	12,7±1,3	NS	
	Rec.(%)	111,0±6,2	NS	99,9±13,4	NS		NS	

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación Cy-G con GCS-F

## RESULTADOS

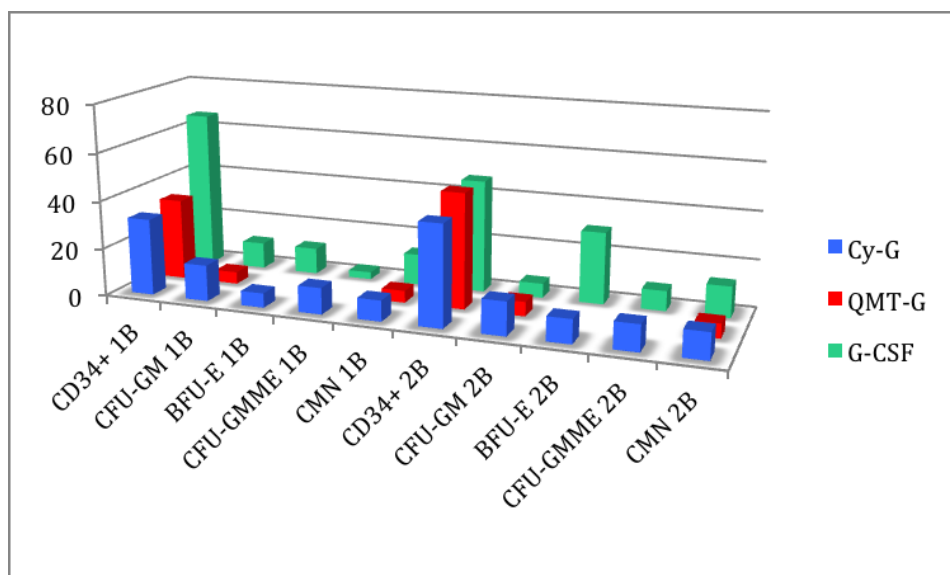


Figura 74: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos recogidos en las aféresis dividido según la movilización realizada en LMA.

Las mayores cifras de  $CD34^+$ /kg tanto en las circulantes como en las bolsas ocurrieron en el grupo movilizado con G-CSF que fue de  $1,0 \times 10^6$ /kg circulante y de  $1,9 \times 10^6$ /kg en el total de las bolsas. Los otros dos grupos superaron levemente el millón de  $CD34^+$ /kg en la suma de las dos bolsas (tabla 80 y figura 75).

**Tabla 80:  $CD34^+$  ( $nx10^6$ /kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la movilización en LMA.**

$CD34^+$ ( $nx10^6$ /kg)	Cy-G (n=25)	QMT-G (n=12)	G-CSF (n=6)
<b>Circulantes</b>	$0,6 \pm 0,2$	$0,9 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,4$
<b>Primera bolsa</b>	$0,5 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,6$
<b>Segunda bolsa</b>	$0,6 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,3$
<b>Total bolsas</b>	<b><math>1,1 \pm 0,3</math></b>	<b><math>1,2 \pm 0,3</math></b>	<b><math>1,9 \pm 0,8</math></b>
<b>Media <math>\pm</math> error estándar de la media</b>			

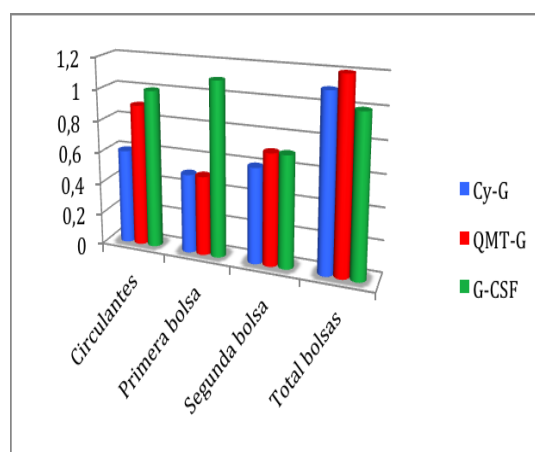


Figura 75:  $CD34^+$  ( $nx10^6$ /kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en LMA.

### 2.6.5 REPERCUSIÓN DE LA SITUACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En el grupo de LMA no pudimos hacer comparaciones respecto a la situación de la enfermedad en el momento de realizar las aféresis ya que, prácticamente, todas las aféresis se realizaron en remisión completa y únicamente se realizaron dos en respuesta parcial, por lo que los resultados no pueden compararse.

### 2.6.6 REPERCUSIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

Las aféresis realizadas a los pacientes con LMA fueron: 28 con una línea, ocho con dos líneas y siete con tres o más líneas de tratamiento previas. No pudimos comparar los progenitores BFU-E y CFU-GMME en el grupo de tratados con tres o más líneas ya que el número a comprar era insuficiente para realizar los estudios o no había ningún dato a analizar.

Los valores más altos correspondieron a los pacientes menos tratados (una o dos líneas), siendo el máximo de CD34<sup>+</sup> de 62,9x10<sup>6</sup> en los tratados con dos líneas y con diferencias estadísticamente significativas al compararse una y dos con tres o más

En el resto de progenitores, las cifras más bajas correspondieron, sin embargo en los menos tratados con respecto a los de dos y más líneas (tabla 81 y figura 76).

**Tabla 81: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo de LMA.**

Nº líneas de tratamiento	1 (n=28)	P*	2 (n=8)	P**	≥3 (n=7)	P***
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	51,3±8,4	NS	62,9±25,8	0,011	13,4±2,1	0,005
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	7,2±1,6	0,023	11,8±8,5	NS	2,3±1,5	0,033
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	4,6±1,3	NS	9,4±5,5	NS	6,3±1,6	NS
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media)</b>						

P\*: comparación 1 línea con 2. P\*\*: comparación 2 líneas con 3.

P\*\*\*: comparación 1 línea con ≥3

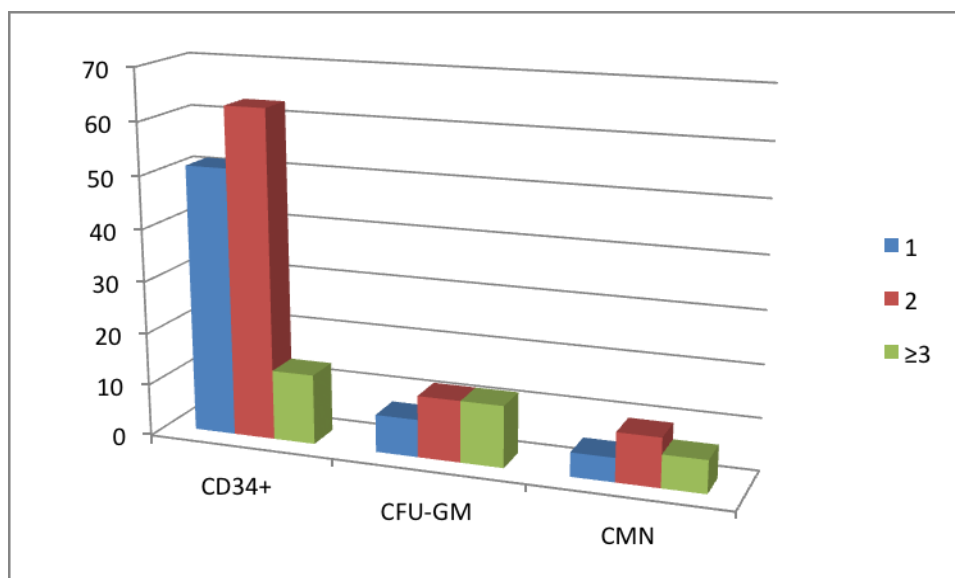


Figura 76: CD34<sup>+</sup>, CFU-GM y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en LMA.

Aunque en la mayoría de la recolección de progenitores en los pacientes tratados con una línea y dos fue mayor, sólo se observaron diferencias significativas en algunas de ellas (tabla 82 y figura 77).

Las recuperaciones fueron buenas, con independencia de haberse tratados con una o dos líneas de tratamiento. En casi todas las células la recuperación fue mayor del 100% o cercano y como en los grupo analizados antes, las CFU-GM fueron las que mayor recuperación obtuvieron.

En esta comparación, al igual que al enfrentar a los menos tratados, la recuperación siguió siendo bastante buena en los más tratados, alcanzando un 84% en las CD34<sup>+</sup> de ambas bolsas en los más tratados (tres o más) y por encima en el resto (tabla 82).

**Tabla 82: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según las líneas de tratamiento previas y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de LMA.**

Líneas (N)		1 (n=28)	P*	2 (n=8)	P**	3 (n=7)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	39,3±8,0	NS	55,2±23,6	NS	11,6±3,5	0,033
	Rec. (%)	86,5±8,9	NS	96,5±16,3	NS	84,9±16,3	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	6,4±2,8	0,001	39,0±20,0	NS	9,8±3,7	NS
	Rec.(%)	143,4±44,5	NS	81,4±35,0	NS	318,3±191,9	NS
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	9,3±1,2	NS	7,5±1,0	0,023	1,9±1,0	NS
	Rec.(%)	86,8±4,7	NS	88,6±4,7	NS	88,0±15,0	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	51,5±8,8	NS	48,7±14,4	0,033	11,1±2,4	0,047
	Rec. (%)	104,4±9,9	NS	113,0±24,3	NS	84,6±11,5	0,049
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	2,6±1,3	<0,001	46,4±23,4	0,006	3,1±1,6	NS
	Rec.(%)	445,2±238,8	NS	73,7±30,6	NS	412,4±236,6	NS
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	11,5±1,5	NS	8,7±1,0	NS	5,1±1,0	NS
	Rec.(%)	111,2±7,5	NS	102,2±10,6	NS	89,5±15,0	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Recup. %, porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis P\* : comparación 1 línea con 2 líneas. P\*\* : comparación 2 líneas con 3 líneas. P\*\*\* : comparación 1 línea con 3 líneas.

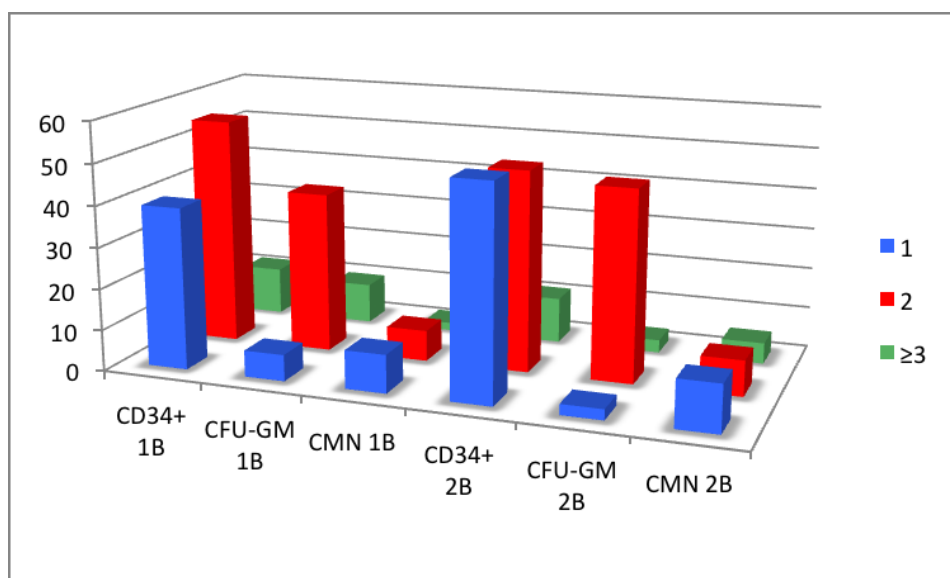


Figura 77: CD34<sup>+</sup>, CFU-GM y CMN totales obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis en función al número de tratamientos previos recibidos en LMA.

## RESULTADOS

Las células CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes calculadas antes de cada aféresis fueron de 0,8x10<sup>6</sup>/kg en los casos que habían recibido una línea de tratamiento previa y de 0,9 x10<sup>6</sup>/kg en los que habían recibido dos líneas y de 0,2x10<sup>6</sup>/kg en el caso de tres o más; obteniéndose, en las dos bolsas de la aféresis un total de 1,3x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/kg en el primer caso y de 1,4x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/kg en los que habían recibido dos líneas y de 0,4x10<sup>6</sup>/kg en el caso de tres o más líneas de tratamiento previas (tabla 83, figura 78).

**Tabla 83: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en LMA.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	1 (n=28)	2 (n=8)	≥ 3 (n=7)
<b>Circulantes</b>	0,8±0,1	0,9±0,5	0,2±0,0
<b>Primera bolsa</b>	0,6±0,1	0,8±0,5	0,2±0,0
<b>Segunda bolsa</b>	0,7±0,2	0,7±0,3	0,2±0,0
<b>Total bolsas</b>	<b>1,3±0,2</b>	<b>1,5±0,7</b>	<b>0,4±0,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>			

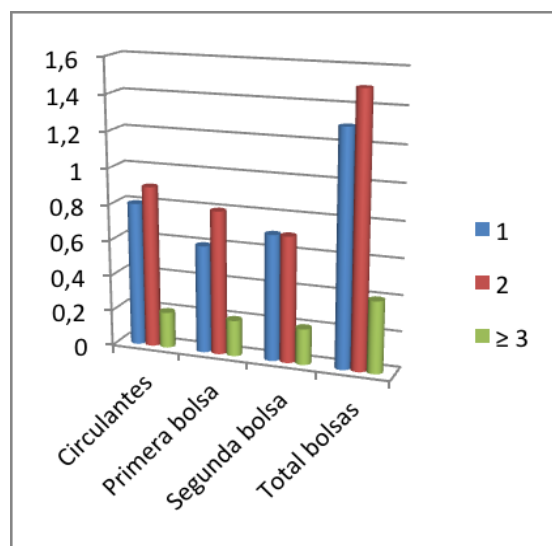


Figura 78: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en LMA.

## 2.7 LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

12 aféresis fueron realizadas a siete pacientes con LLA, en diferentes situaciones clínica, líneas de tratamiento y edad, ya explicadas en el apartado 1. A continuación describimos los datos correspondientes a parámetros hematológicos, progenitores hematopoyéticos y aféresis

### 2.7.1 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup> Y CFU-GM TOTALES CIRCULANTES

En el grupo de LLA encontramos que, tras realizar la mitad de la aféresis, había una disminución de las células CD34<sup>+</sup> y CMN circulantes que alcanzabas la significación estadística, mientras que por el contrario las CFU-GM aumentaban pero sin alcanzar significación estadística (tabla 84). No se estudiaron las CFU-GMME y las BFU-E en este grupo porque las aféresis se realizaron antes de tener implantada la técnica para ello.

**Tabla 84: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de LLA.**

	CMNT (x10 <sup>9</sup> )	CD34 <sup>+</sup> (x10 <sup>6</sup> )	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )
Pre-aféresis	9,4±1,3	92,7±31,7	6,7±32,4
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	6,7±0,9**	60,8±25,5*	63,0±49,5

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)

### 2.7.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup> Y CFU-GM TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

Al ver los progenitores hematopoyéticos recogidos en la primera y segunda bolsa, observamos únicamente se recogieron un mayor número de número de células CMN en la segunda bolsa con respecto a la primera, en las CD34<sup>+</sup> fue menor, las CFU-GM igual en ambas bolsas (tabla 85 y figura 79).

Se recuperó en dos de las tres células estudiadas más del 200% de las células CD34<sup>+</sup> y de las CFU-GM al finalizar las AAV (tabla 85).



## RESULTADOS

**Tabla 85: LLA: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM y CMN obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	139,3±59,6	NS	123,78±608	263,0±119,3
	Rec.(%)	108,1±17,7	NS	95,1±18,5	203,3±31,0
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	2,0±0,8	NS	2,0±0,7	3,9±1,4
	Rec.(%)	379,8±113,7	NS	368,7±155,4	1187,2±382,2
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	8,5±1,6	NS	9,5±1,6	18,0±3,2
	Rec.(%)	82,4±10,4	0,021	94,9±10,7	177,4±20,6

Media± error estándar de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
Rec.(%): porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

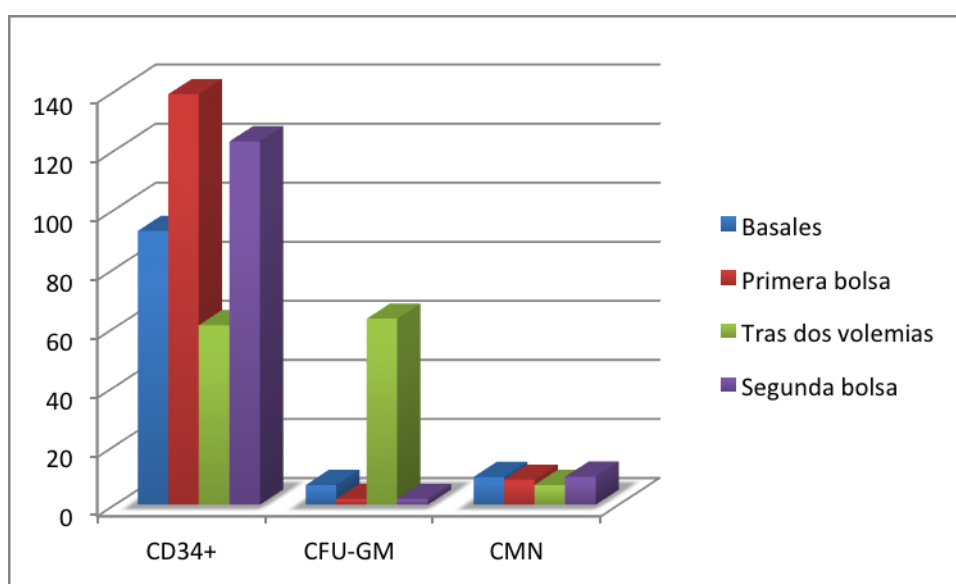


Figura 79: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente y en las bolsas de aféresis en el grupo de LLA inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemias (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda).

### 2.7.3 DATOS DE LAS CD34<sup>+</sup>/KG CIRCULANTES Y EN CADA UNA DE LAS BOLSAS DE AFÉRESIS

Los pacientes con LLA presentaban una cifra basal de células CD34<sup>+</sup> de 1,2x10<sup>6</sup>/kg y se obtuvo una mejor recuperación de éstas en las bolsas, con un 150% y 125% en la primera y segunda y con un total que alcanzó el 275% (tabla 86 y figura 80).

**Tabla 86: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

	CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)
Circulantes	1,2±0,5
Primera bolsa	1,8±0,7
Segunda bolsa	1,5±0,7
Total bolsas	3,3±1,4
<b>Media± error estándar de la media</b>	

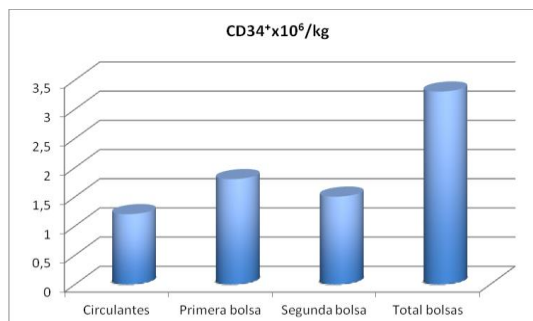


Figura 80: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo de LLA.

#### 2.7.4 REPERCUSIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

Los pacientes diagnosticados de LLA no hubo ninguna movilización con G-CSF, se realizaron siete aféresis tras movilización con Cy-G y cinco con QMT-G.

No se observó diferencia estadísticamente significativa en ninguno de los PH circulantes, si bien las CD34<sup>+</sup> mayores correspondieron a los movilizados con QMT-G (tabla 87 y figura 81).

**Tabla 87: Comparación de progenitores hematopoyéticos totales circulantes pre-aféresis según el esquema de movilización en LLA.**

Movilización	Cy-G (n=7)	QMT-G (n=5)	p
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	84,5±34,9	104,0±82,2	0,835
CFU-GM(nx10 <sup>4</sup> )	10,2±0,6	8,2±3,0	0,574
CMN(nx10 <sup>9</sup> )	5,3±1,1	3,5±3,0	0,610
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media)</b>			

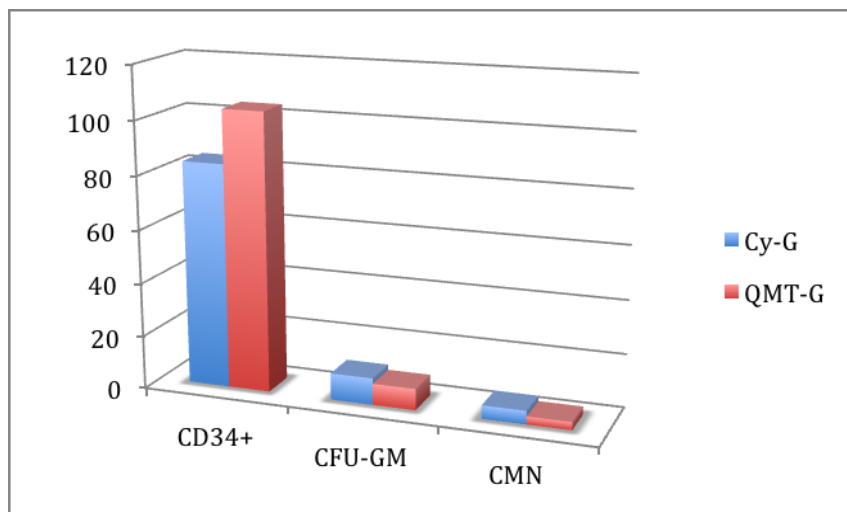


Figura 81: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos basales dividido según la movilización realizada en LLA.

En los estudios de los PH recogidos en las bolsas de aféresis no hubo diferencias significativas en los CD34<sup>+</sup> ni CMN y sí en las CFU-GM de ambas bolsas a favor de los movilizados con Cy-G (tabla 88 y figura 82).

Las recuperaciones de los PH fueron muy buenas en los movilizados con Cy-G consiguiendo más del 100% de las CD34<sup>+</sup> en cada bolsa y más de diez veces las CFU-GM de la segunda bolsa. En los movilizados con QMT-G no se llegó a estas cifras; la recuperación de las CD34<sup>+</sup> fue de alrededor del 80% en ambas bolsas (tabla 88).

**Tabla 88: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según el esquema de movilización y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de LLA.**

Movilización		Cy-G (n=7)	QMT-G (n=5)	P*
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	130,7±61,2	151,2±124,5	NS
	Rec.	126,3±18,9	82,7±32,4	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	32,9±11,8	11,4±0,9	0,036
	Rec.	591,9±217,2	ND	--
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	7,9±2,2	5,4±1,3	0,013
	Rec.	1144,1±477,6	ND	--
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	109,1±62,5	144,4±125,9	NS
	Rec.	115,1±11,8	74,5±10,9	0,013
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	11,5±2,7	6,6±3,4	NS
	Rec.	126,3±18,9	82,7±32,4	NS
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	10,6±1,1	5,4±3,1	NS
	Rec.	109,9±27,2	74,5±23,1	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Recup. %, porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\*: comparación Cy-G con QMT-G.

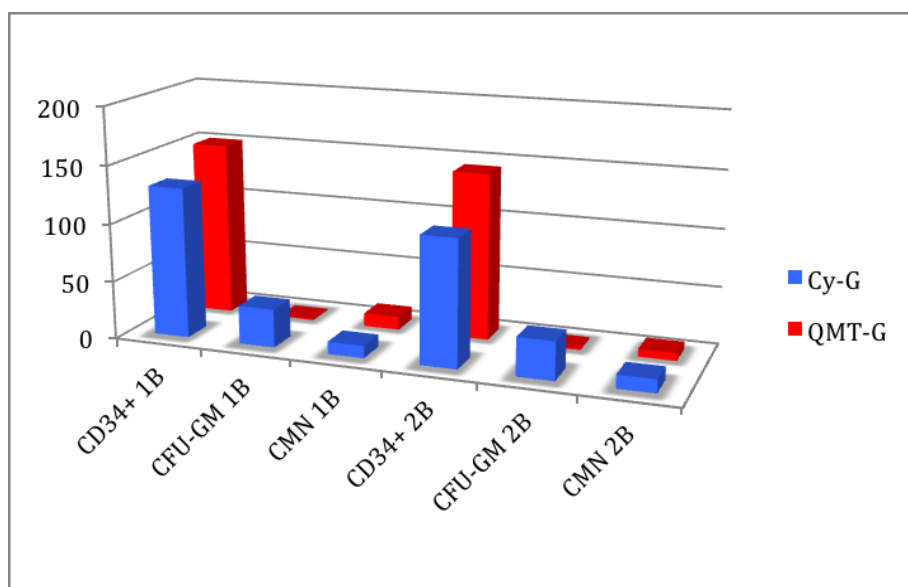


Figura 82: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos recogidos en las aféresis dividido según la movilización realizada en LMA.

Partiendo de unas CD34<sup>+</sup>/kg de 1,0 y 1,4x10<sup>6</sup>/kg en los movilizados con Cy-G y QMT-G respectivamente, se obtuvieron 1,6 y 1,3% en la primera y segunda bolsa en el grupo de Cy, mientras que en el de QMT-G fue de 2,0 y 1,9% (tabla 89 y figura 83).

**Tabla 89: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la movilización en LLA.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	Cy-G (n=7)	QMT-G (n=5)
<b>Circulantes</b>	1,0±0,4	1,4±1,0
<b>Primera bolsa</b>	1,6±0,7	2,0±1,6
<b>Segunda bolsa</b>	1,3±0,7	1,9±1,6
<b>Total bolsas</b>	<b>2,9±1,3</b>	<b>3,9±3,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>		

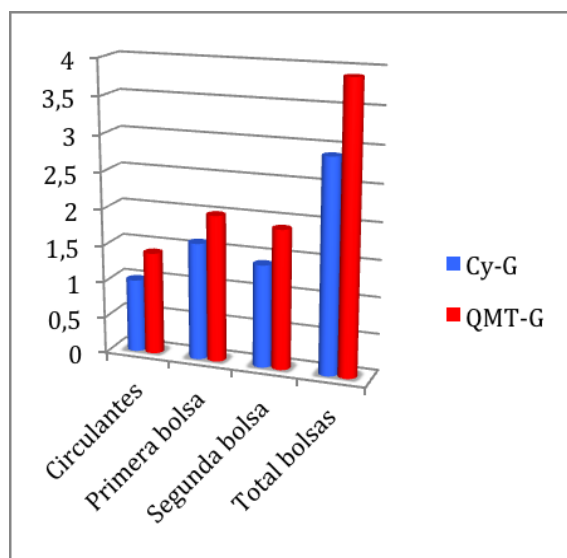


Figura 83: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en EH.

En el grupo de prácticamente todas las aféresis se realizaron en remisión completa y únicamente se realizó una en progresión; lo mismo ocurre con las líneas de tratamiento previas.

## 2.8 CÁNCER DE MAMA

Estudiamos a 43 pacientes con cáncer de mama a los que se les realizaron 87 aféresis, las características de edad, situación clínica y líneas de tratamiento recibidas descritas en el apartado 1. A continuación describimos los datos correspondientes a parámetros hematológicos, progenitores hematopoyéticos y aféresis.

En los pacientes con cáncer de mama no se estudiaron las BFU-E ni las CFU-GMME ya que en el período en el que se realizaron las aféresis para la mama, aún no era práctica habitual en nuestro servicio.

### 2.8.1 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup> Y CFU-GM, TOTALES CIRCULANTES

Encontramos que había una disminución de las células CD34<sup>+</sup> y CMN que alcanzabas la significación estadística, tras realizar la primera mitad de la aféresis,

mientras que, por el contrario, las CFU-GM aumentaban alcanzando significación estadística también. No tenemos datos de las BFU-E ni CFU-GMME porque en el momento de realizar las aféresis en estos pacientes no teníamos implantada la técnica para ello (tabla 90).

**Tabla 90: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de cáncer de mama.**

	CMNT ( $\times 10^9$ )	CD34 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	CFU-GM ( $\times 10^4$ )
Pre-aféresis	8,8 $\pm$ 0,7	170,2 $\pm$ 25,7	16,8 $\pm$ 3,7
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	7,2 $\pm$ 0,5*	125,8 $\pm$ 16,2*	56,8 $\pm$ 13,0*

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)

### **2.8.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup> Y CFU-GM TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS**

Al ver los progenitores hematopoyéticos recogidos en la primera y segunda bolsa, observamos que se recogieron un mayor número tanto de células CD34<sup>+</sup>, CFU-GM y CMN (nivel estadísticamente significativo) en la segunda bolsa con respecto a la primera (tabla 91 y figura 84).

La recuperación (calculadas como porcentaje de las totales basales circulantes) fue mayor en las CD34<sup>+</sup> de la segunda bolsa alcanzando nivel de significación estadística, mientras que fue muy similar en lo que respecta a las CMN y mucho menor en las CFU-GM en la segunda. En cuanto al total, las CFU-GM fueron, de nuevo, las que más se recuperaron y las CD34<sup>+</sup> y CMN se recuperó cerca del 200% (tabla 91).

## RESULTADOS

**Tabla 91: Cáncer de mama: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup> CFU-GMME y CMN obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	105,2±12,3	0,022	123,1±12,3	228,6±23,3
	Rec.(%)	79,4±5,1	0,001	104,2±7,7	183,6±11,2
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	2,9±0,5	NS	3,1±0,6	6,1±1,0
	Rec.(%)	391,1±81,1	NS	545±164,9	803,8±127,0
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	6,8±0,4	<0,001	8,4±0,5	15,2±0,8
	Rec.(%)	86,6±4,0	<0,001	112,1±5,6	198,7±8,9

Media± estándar error de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
Rec.(%): porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

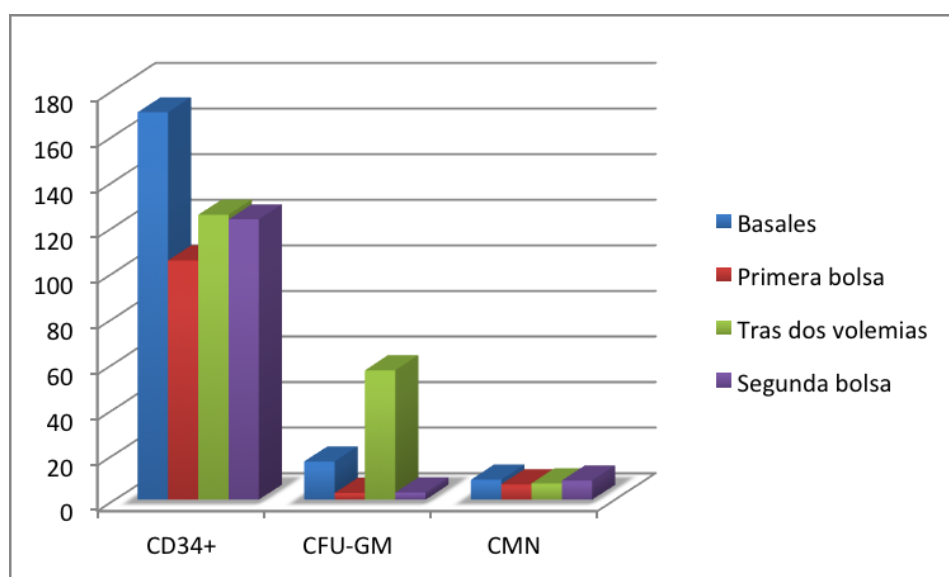


Figura 84: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente y en las bolsas de aféresis en el grupo de cáncer de mama inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemias (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda)

### 2.8.3 DATOS DE LAS CD34<sup>+</sup>/KG CIRCULANTES Y EN CADA UNA DE LAS BOLSAS DE AFÉRESIS

Con el doble de CD34<sup>+</sup>/kg que la media en los pacientes con cáncer de mama, la recuperación, igualmente fue muy buena y se pudo recoger un 79,4 % en la primera bolsa,

así como un 104,2% en la segunda para un total de 183,6% en el conjunto de la recuperación células de las CD34<sup>+</sup> (tabla 92 y figura 85).

**Tabla 92: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

	CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)
Circulantes	2,4±0,1
Primera bolsa	1,6±0,1
Segunda bolsa	1,8±0,1
Total bolsas	3,4±0,2
<b>Media± error estándar de la media</b>	

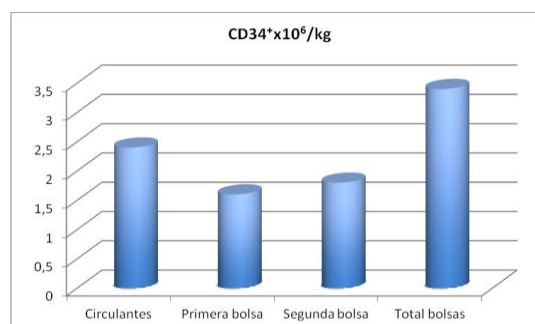


Figura 85: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.

#### 2.8.4 REPERCUSIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

Las PH cirulantes basales fueron muy altas en los tres grupos de los pacientes con cáncer de mama (CD34<sup>+</sup> superiores a 140x10<sup>6</sup>/Kg) y en ninguno de ellos se llegó a tener diferencias estadísticamente significativas con respecto a los otros. Los CD34<sup>+</sup> más altos se vieron en los movilizados con QMT-G (tabla 93 y figura 86).

**Tabla 93: Comparación de progenitores hematopoyéticos totales circulantes pre-aféresis según el esquema de movilización en cáncer de mama.**

Movilización	Cy-G (n=43)	QMT-G (n=29)	G-CSF (n=15)
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	143,2±29,7	224,4±43,2	143,1±89,9
CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	10,2±2,4	22,6±6,7	4,5±1,8
CMN (x10 <sup>9</sup> )	8,2±0,7	9,9±1,5	8,7±1,9
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media)</b>			



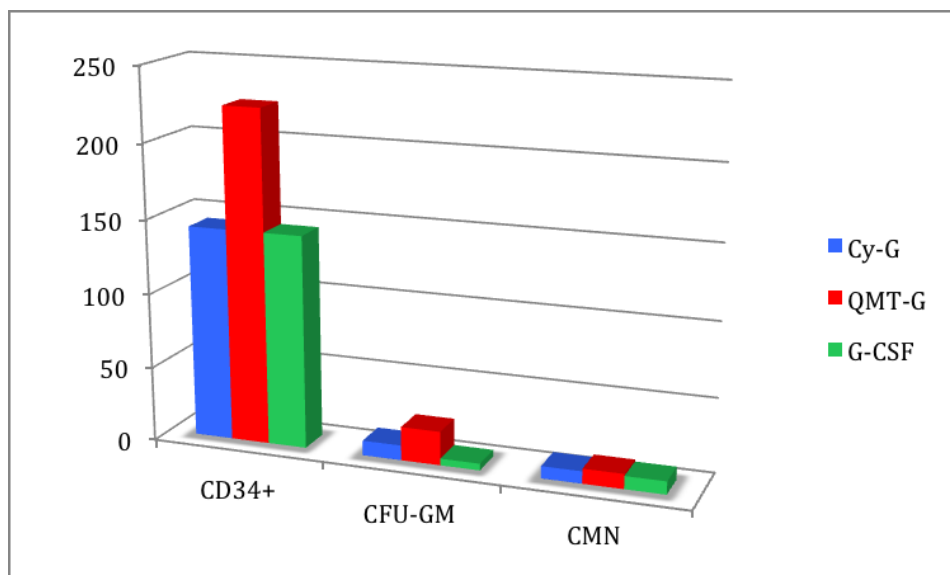


Figura 86: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos basales dividido según la movilización realizada en cáncer de mama.

Al comparar los PH obtenidos en las bolsas de aféresis, las diferencias estadísticamente significativas se obtuvieron en: las CD34+ de la segunda bolsa de QMT-G frente a G-CSF ( $p=0,010$ ); CFU-GM de QMT-G frente a Cy-G y G-CSF ( $p=0,034$  y  $0,045$ ); y CMN de QMT-G ante Cy-G ( $p=0,0001$ )(tabla 94 y figura 87).

En las recuperaciones de los CD34+ de la primera bolsa no se llegó en ninguna movilización al 100% mientras que en la segunda, fue del 100% de los movilizados con Cy-G y de 127,9% en los de QMT-G. En el resto si se superó esta cifra e incluso más de cinco veces se recuperó en las CFU-GM (tabla 94).

**Tabla 94: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según el esquema de movilización y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de Ca mama**

Movilización		Cy-G (n=43)	P*	QMT-G (n=29)	P**	G-CSF (n=15)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	97,6±16,1	NS	137,6±20,2	NS	64,2±36,3	NS
		Rec.(%)	83,4±6,5	NS	79,7±9,6	NS	66,2±13,6
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	22,1±4,4	0,034	46,3±10,1	0,045	15,1±10,9	NS
		Rec.(%)	366,9±92,7	NS	398,9±109,9	NS	526,8±135,3
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	6,7±0,7	NS	6,6±0,6	NS	7,2±0,9	NS
		Rec.(%)	87,8±5,5	NS	76,9±5,2	0,036	102,0±12,6
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	98,1±10,8	NS	186,0±21,6	0,010	73,2±41,2	NS
		Rec.(%)	99,9±9,3	NS	127,9±16,8	0,023	68,3±10,3
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	13,0±2,4	<0,001	58,8±11,8	NS	32,0±25,8	NS
		Rec.(%)	368,6±92,7	NS	730,2±256,1	NS	526,8±135,3
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	8,0±0,8	NS	8,5±0,7	NS	9,7±0,8	NS
		Rec.(%)	106,5±8,1	NS	106,2±7,9	0,043	139,4±16,1

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\* : comparación Cy-G con QMT-G. P\*\* : comparación QMT con G-CSF. P\*\*\* : comparación Cy-G con GCS-F. ND.: no datos

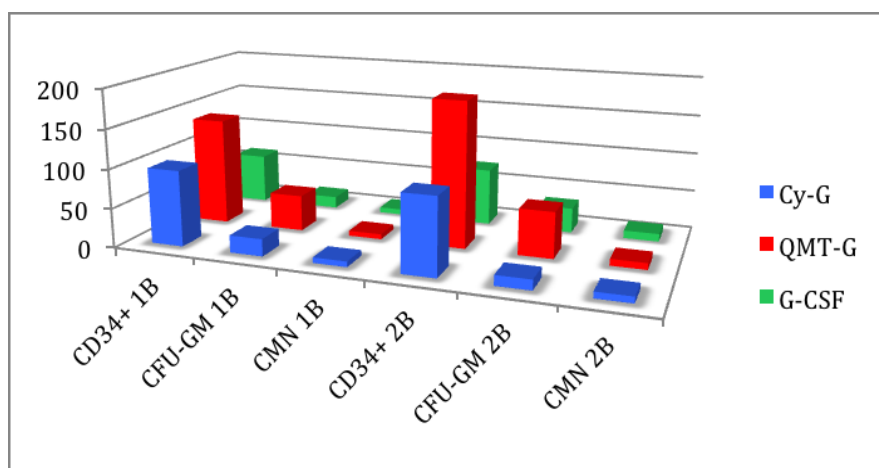


Figura 87: Datos de la cifra de progenitores hematopoyéticos recogidos en las aféresis dividido según la movilización realizada en cáncer de mama.

Partiendo de los CD34<sup>+</sup>/kg más altos en el grupo de QMT-G, también en las bolsas se recogieron las mayores cantidades, con 2,1 y 2,9x10<sup>6</sup>/kg en cada bolsa, mientras que en los movilizados con Cy-G los CD34<sup>+</sup> circulantes fue de 2,1x10<sup>6</sup>/kg y 1,4x10<sup>6</sup>/kg en cada bolsa y por último, en los de G-CSF fue de 1,7x10<sup>6</sup>/kg basal y 0,8 y 0,9x10<sup>6</sup>/kg en la

## RESULTADOS

primera y segunda bolsa de aféresis (tabla 95 y figura 88).

**Tabla 95: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la movilización en cáncer de mama.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	Cy-G (n=43)	QMT-G (n=29)	G-CSF (n=15)
<b>Circulantes</b>	2,1±0,4	3,3±0,5	1,7±0,9
<b>Primera bolsa</b>	1,4±0,2	2,1±0,3	0,8±0,3
<b>Segunda bolsa</b>	1,4±0,2	2,9±0,3	0,9±0,4
<b>Total bolsas</b>	2,9±0,4	5,0±0,6	1,6±0,7
<b>Media± error estándar de la media</b>			

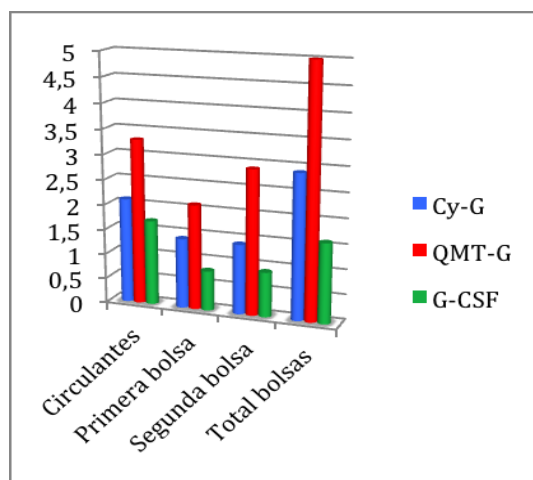


Figura 88: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en cáncer de mama.

### 2.8.5 REPERCUSIÓN DE LA SITUACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En el grupo de cáncer de mama, no teníamos ningún paciente en progresión por lo que sólo comparamos remisión completa versus la respuesta parcial

Obtuvimos los datos absolutos en el paciente antes de iniciar la aféresis del recuento de CD34<sup>+</sup>, CFU-GM, BFU-GM, colonias mixtas y CMN (tabla 96 y figura 89).

En los pacientes con cáncer de mama, las cifras basales de CD34<sup>+</sup> fueron 158x10<sup>6</sup>/Kg y 171x10<sup>6</sup>/Kg en RC y RP, respectivamente, sin que hubiese diferencias estadísticas.

**Tabla 96: comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en cáncer de mama.**

Situación clínica	RC (n=84)	RP (n=3)	p
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	158,5±23,8	171,9±8,2	0,594
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	13,9±2,8	5,1±4,2	0,218
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	8,6±0,7	11,6±0,2	0,212
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media)</b>			

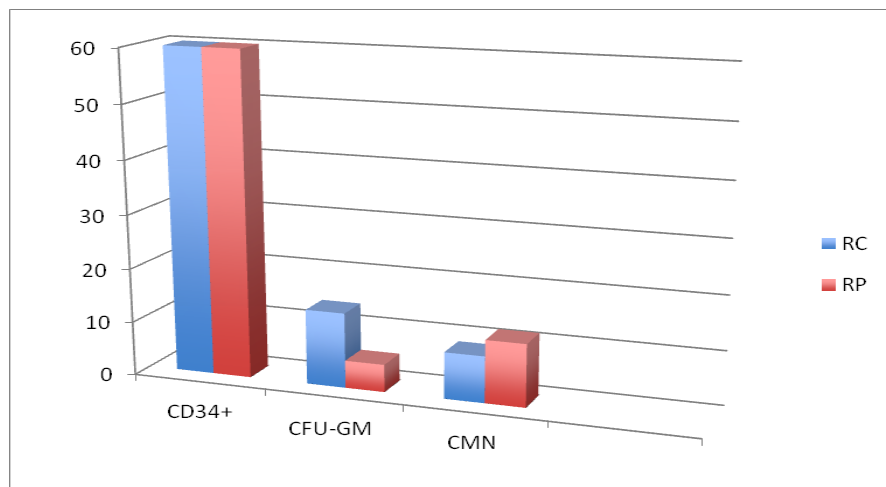


Figura 89: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la situación clínica del paciente en cáncer de mama.

Como en todos los grupos, la recuperación fue buena, con cifras entorno al 100% en las CD34<sup>+</sup> y en las CMN y de 4 veces en las CFU-GM. La recuperación de CD34<sup>+</sup> fue inferior al 90% en la primera bolsa tanto en las aféresis realizadas en RC como en RP, si superó el 100% en la segunda bosa. Solamente se encontró diferencia significativa en el número total de CD34<sup>+</sup> en ambas bolsas, siendo mas alta en RP, pero este dato no lo consideramos valorable ya que solamente se realizaron tres aféresis en este grupo (tabla 97 y figura 90).

## RESULTADOS

**Tabla 97: Situación clínica en el momento de la aféresis : Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa, expresados como cantidad total y como porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis, en el grupo cáncer de mama.**

Situación clínica			RC (n=84)	RP (n=3)	p
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	98,6±11,5	150,4±2,7	<0,001
		Rec.(%)	79,5±5,3	87,7±5,7	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	29,7±4,8	20,2±5,9	NS
		Rec.(%)	404,4±491,5	253,0±210,3	NS
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	6,6±0,4	8,1±1,3	NS
		Rec.(%)	87,0±4,1	69,0±19,3	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	118,0±12,3	261,7±14,6	0,006
		Rec.(%)	104,0±7,9	152,9±15,8	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	30,0±5,9	109,1±16,0	NS
		Rec.(%)	459,0±83,7	285±26,0	NS
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	8,4±0,5	6,7±5,4	NS
		Rec.(%)	113,9±5,6	62,1±52,6	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. RC: respuesta completa. RP: respuesta parcial.

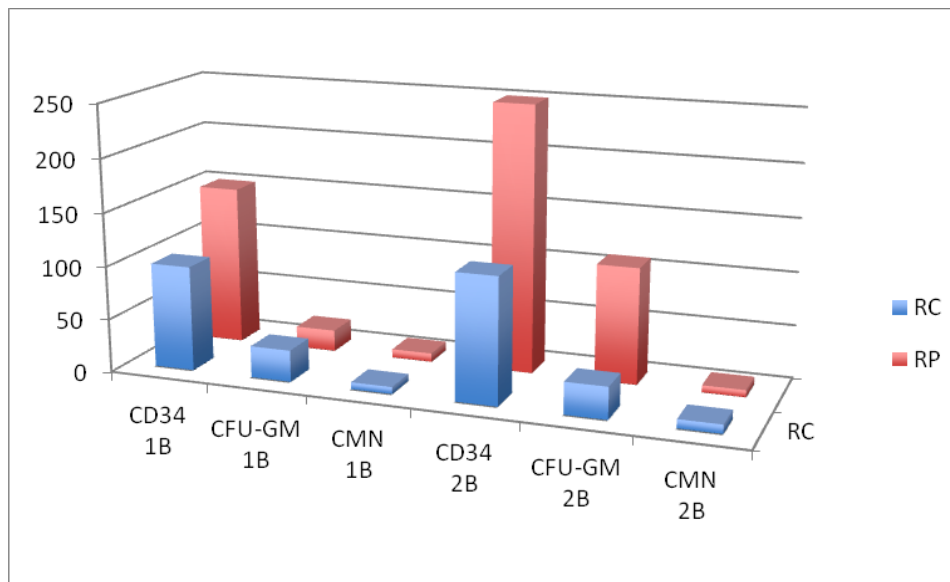


Figura 90: Comparación de progenitores hematopoyéticos en la primera y segunda bolsa según la situación clínica del paciente en cáncer de mama.

La media de células CD34<sup>+</sup> circulantes pre-aféresis fue de  $2,3 \times 10^6/\text{Kg}$  en los pacientes en RC y de  $2,8 \times 10^6/\text{Kg}$  en RP, obteniéndose tras completar la aféresis un total

de  $3,2 \times 10^6 \text{CD34}^+/\text{Kg}$  y de  $2,6 \times 10^6 \text{CD34}^+/\text{Kg}$  en RC y RP, respectivamente (tabla 98 y figura 91).

**Tabla 98:  $\text{CD34}^+$  ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total en función a la situación clínica en cáncer de mama.**

$\text{CD34}^+$ ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ )	RC (n=84)	RP (n=3)
<b>Circulantes</b>	$2,3 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,1$
<b>Primera bolsa</b>	$1,4 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,4$
<b>Segunda bolsa</b>	$1,7 \pm 0,2$	$4,2 \pm 0,2$
<b>Total bolsas</b>	$3,2 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,3$
<b>Media <math>\pm</math> error estándar de la media</b>		

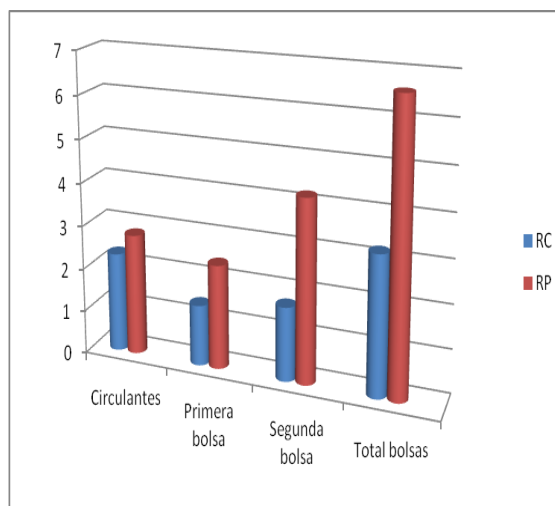


Figura 91:  $\text{CD34}^+$  ( $\text{nx}10^6/\text{kg}$ ) circulantes, en ambas bolsas y el total en cáncer de mama.

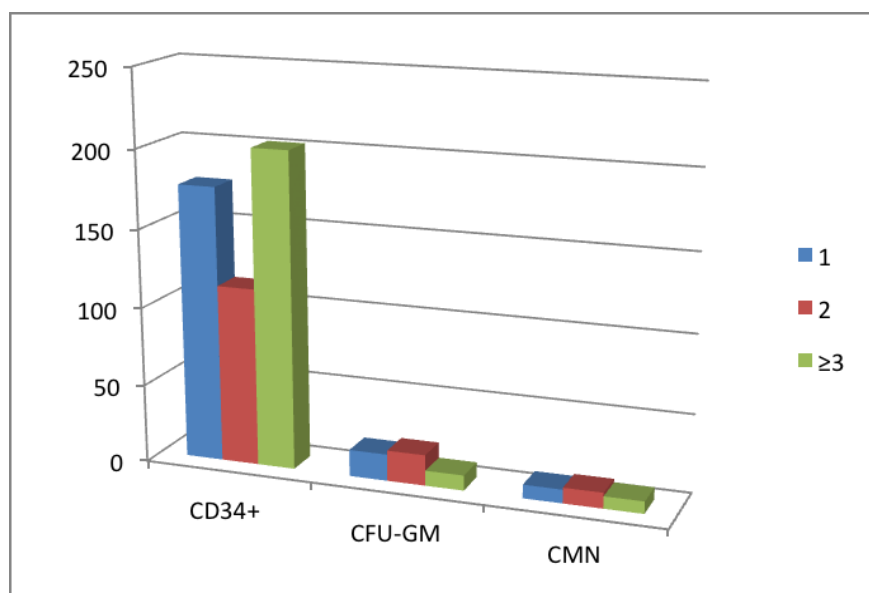
### 2.8.6 REPERCUSIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

El número de aféresis realizadas en este grupo de pacientes fueron: 62 con una línea, 13 con dos y 12 con tres o más líneas de tratamiento previas.

Curiosamente en el grupo de cáncer de mama, las  $\text{CD34}^+$  basales más altas se obtuvieron en los que recibieron más líneas de tratamiento aunque en todos los grupos presentaban más de  $100 \times 10^6 \text{CD34}^+$ . Mientras, las CFU-GM y CMN mayores se detectaron en los que recibieron dos líneas. A pesar de ello, en ninguna de las comparaciones se obtuvo un nivel estadístico significativo. (tabla 99 y figura 92)

**Tabla 99: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo de cáncer de mama.**

Nº líneas de tratamiento	1 (n=62)	2 (n=13)	≥3 (n=12)
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	176,0±30,1	113,6±26,2	201,9±95,0
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	17,3±4,6	19,6±9,9	9,7±3,8
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	8,7±0,7	10,0±2,7	7,8±1,3
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media)</b>			



**Figura 92: CD34<sup>+</sup>, CFUGM y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en cáncer de mama.**

Comparando una frente a 2 líneas de tratamiento, a pesar de no encontrar diferencias estadísticamente significativas, si que en todas las células y en ambas bolsas, el mayor número de células se obtuvieron en los pacientes menos tratados. Vimos que las CD34<sup>+</sup> recolectadas fueron de 109,9 y 131,8x10<sup>6</sup> en la primera y segunda bolsa respectivamente de los que habían recibido únicamente una línea de tratamiento frente a 69,5 y 89,5 x10<sup>6</sup> en los que recibieron dos.

Curiosamente en el grupo de los más tratados se obtuvieron más CD34<sup>+</sup> en la primera y segunda bolsa que en los otros dos grupos, aunque sin diferencias estadísticamente significativas (tabla 100 y figura 93).

La recuperación celular fue buena en todos los grupos, aunque en lo que respecta a las CD34<sup>+</sup> no se llegó al 100% en ninguno de los grupos en la primera bolsa, cosa que si pasó en la segunda. Se recuperaron más de cuatro veces las CFU-GM en los menos tratados y hasta casi diez en los de dos líneas.

En ningún caso llegó a un nivel estadístico significativo (tabla 100).

**Tabla 100: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según las líneas de tratamiento previas y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de Ca mama.**

Líneas (N)		1 (n=62)	P*	2 (n=13)	P**	3 (n=12)	P***
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	109,9±14,7	NS	69,5±14,0	NS	119,3±44,4	NS
	Rec.(%)	80,4±6,2	NS	71,2±7,6	0,037	82,8±16,7	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	31,9±6,1	0,006	20,4±4,6	NS	9,8±3,7	0,049
	Rec.(%)	400,3±78,8	NS	466,1±161,4	NS	318,3±191,9	NS
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	6,8±0,5	NS	5,7±1,1	NS	5,7±1,1	NS
	Rec.(%)	86,7±4,6	NS	69,0±7,2	NS	105,2±13,1	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	131,8±15,5	NS	89,4±24,5	NS	114,3±27,4	NS
	Rec.(%)	108,5±9,8	NS	87,7±12,5	NS	100,3±20,6	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	33,0±7,6	NS	29,8±10,2	0,003	3,1±1,6	NS
	Rec.(%)	475,3±107,4	NS	919,7±476,6	NS	412,4±236,6	NS
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	8,7±0,6	NS	6,8±1,1	NS	6,9±1,1	NS
	Rec.(%)	111,8±6,15	NS	94,8±13,2	NS	132,0±20,8	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS, no significativo. Rec.%: porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis. P\*: comparación 1 línea con 2 líneas. P\*\*: comparación 2 líneas con 3 líneas. P\*\*\*: comparación 1 línea con 3 líneas.

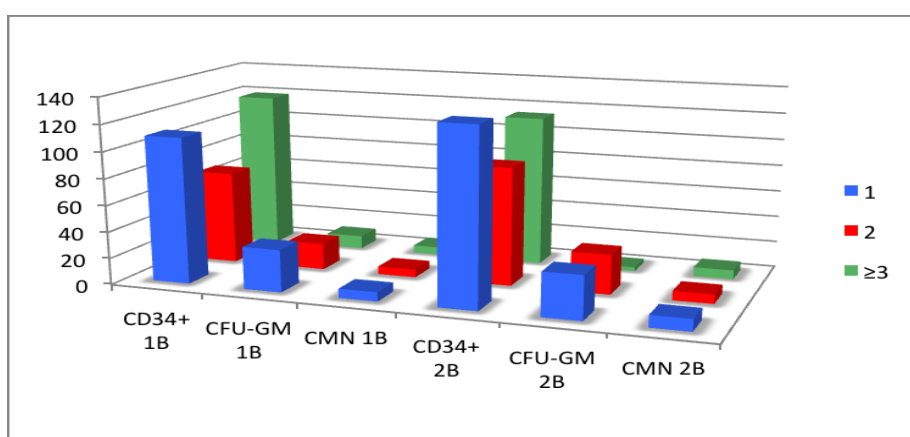


Figura 93: CD34<sup>+</sup>, CFUGM y CMN totales obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, en función al número de tratamientos previos recibidos en cáncer de mama.



Las células CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes antes de cada aféresis fueron de 2,5x10<sup>6</sup>/kg en los casos que habían recibido una línea de tratamiento previa y de 1,6 x10<sup>6</sup>/kg en los que habían recibido dos líneas y de 3,2 x10<sup>6</sup>/kg en el caso de tres o más; obteniéndose, en las dos bolsas de la aféresis un total de 3,6x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/kg en el primer caso y de 2,4x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/kg en los que habían recibido dos líneas y de 4 x10<sup>6</sup>/kg en el caso de tres o más líneas de tratamiento previas (tabla 101, figura 94).

**Tabla 101: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en cáncer de mama.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	1 (n=62)	2 (n=13)	≥ 3 (n=12)
Circulantes	2,5±0,4	1,6±0,3	3,2±1,6
Primera bolsa	1,6±0,2	1,0±0,2	2,0±0,7
Segunda bolsa	2,0±0,2	1,3±0,4	2,0±0,4
Total bolsas	3,6±0,4	2,4±0,6	4,0±1,0
<b>Media± error estándar de la media</b>			

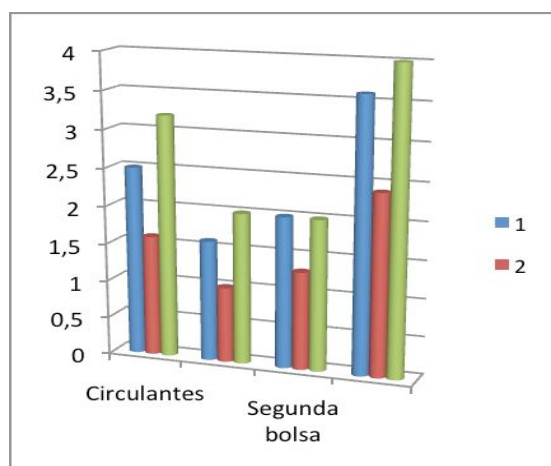


Figura 94: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en cáncer de mama.

## 2.9 LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

En los pacientes con LMC se les realizaron 12 aféresis, donde características de edad, situación clínica y líneas de tratamiento recibidas descritas en el apartado 1. Estudiamos, al igual que en el resto de patologías los parámetros hematológicos y los PH tanto previo a la aféresis como en las bolsas de recolección.

De los seis pacientes con LMC movilizados, cuatro lo hicieron con G-CSF y dos en basal, por lo que no se pudo hacer ningún estudio comparativo con respecto a las movilizaciones.

### 2.9.1 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup> Y CFU-GM TOTALES CIRCULANTES

Encontramos las células CD34<sup>+</sup> circulantes disminuían significativamente después de las 2 primeras volemias, mientras que las CMNT aumentaban significativamente en la misma situación. Las CFU-GM a penas se modificaron (tabla 102).

**Tabla 102: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de LMC.**

	CMNT (x10 <sup>9</sup> )	CD34 <sup>+</sup> (x10 <sup>6</sup> )	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )
Pre-aféresis	19,7±3,8	450,6,±356,5	4,1±1,5
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	13,9±3,3*	266,9±210,0*	4,2±1,4

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)

### 2.9.2 CÉLULAS CMN, CD34<sup>+</sup> Y CFU-GM TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

El número de células CMN y CD34<sup>+</sup> obtenidas fue mayor en la segunda bolsa con respecto a la primera. En el caso de las CMN con significación estadística (p=0,004). Sin embargo, la tendencia con las CFU-GM fue la contraria: se obtuvieron menos en la segunda bolsa (tabla 103 y figura 95).

En los pacientes con LMC las recuperaciones (calculadas como porcentaje de las totales basales circulantes de las CD34<sup>+</sup> y CMN) fueron mayores que en la primera mitad de la aféresis, resultando estadísticamente significativo, no así las CFU-GM (tabla 103 y figura 95).

## RESULTADOS

**Tabla 103: LMC: Cantidad y porcentaje de recuperación de las células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis, así como el total en ambas bolsas.**

		Primera bolsa	p	Segunda bolsa	Total aféresis
CD34 <sup>+</sup>	(nx10 <sup>6</sup> )	337,9±252,7	NS	392,2±284,7	730,1±537,3
	Rec.(%)	88,4±17,0	0,012	110,6±18,0	198,9±34,3
CFU-GM	(nx10 <sup>5</sup> )	4,5±3,6	NS	3,0±2,0	7,5±5,5
	Rec.(%)	617,5±273,6	NS	622,7±339,3	425,2±210,6
CMN	(nx10 <sup>9</sup> )	14,7±2,1	0,004	18,6±2,3	33,3±4,24
	Rec.(%)	84,0±7,3	0,002	110,8±12,2	194,8±34,3

Media± error estándar de la media p= significación estadística. NS= no significativo  
Rec.(%): porcentaje de recuperación respecto a las cifras basales pre-aféresis

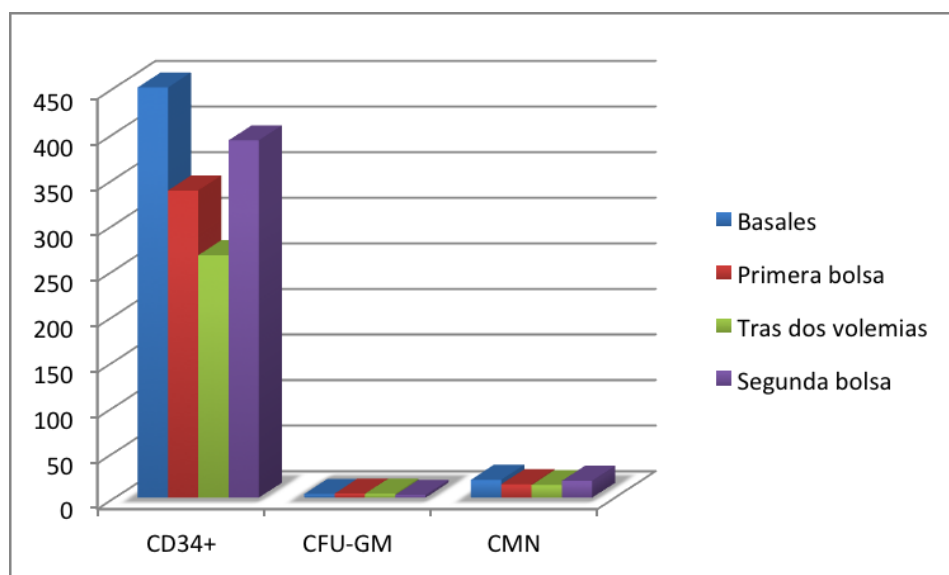


Figura 95: Gráfica de progenitores hematopoyéticos en el paciente y en las bolsas de aféresis en el grupo de LMC inmediatamente antes de la aféresis (barra azul) y tras haber procesado las dos primeras volemias (barra verde), y en las bolsas de aféresis (barra roja la primera bolsa y barra violeta la segunda)

### 2.9.3 DATOS DE LAS CD34<sup>+</sup>/KG CIRCULANTES Y EN CADA UNA DE LAS BOLSAS DE AFÉRESIS

Este grupo de LMC fue el que presentó una cifra basal de CD34<sup>+</sup>/kg más alta con una media de 7,1x10<sup>6</sup>/kg, y aunque la recogida de éstas fue la más alta en valores absolutos, la recuperación fue similar al resto de grupos. Así obtuvimos un 82% y un 96% en la primera y segunda bolsa respectivamente y un 178% en el conjunto (tabla 104 y figura 96).

**Tabla 104: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	
Circulantes	7,1±4,9
Primera bolsa	5,8±3,7
Segunda bolsa	6,8±4,3
Total bolsas	12,6±8,0
Media± error estándar de la media	

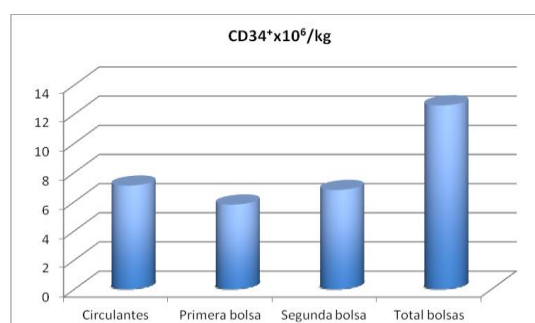


Figura 96: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.

### 2.9.4 REPERCUSIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN Y SITUACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

En el grupo de LMC no pudimos hacer comparaciones ya que todas las aféresis se realizaron en la misma situación clínica.

### 2.9.5 REPERCUSIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO EN LA EFICACIA DE LA AFÉRESIS

La cifra de CD34<sup>+</sup> circulantes fue muy alta (713x10<sup>6</sup>) en las aféresis realizadas a los pacientes menos tratados, pero que no llegó a un nivel de significación estadístico con respecto a los de dos líneas, probablemente por el número bajo de aféresis comparadas.

## RESULTADOS

En el resto, se encontró nivel estadístico significativo en las CMN a favor de los menos tratados (tabla 105 y figura 97).

**Tabla 105: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en el grupo de LMC.**

Nº líneas de tratamiento	1 (n=7)	2 (n=5)	p
CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> )	713,8±662,8	40,6±8,2	0,417
CFU-GM (nx10 <sup>5</sup> )	4,5±2,6	2,0±0,6	0,380
CMN (nx10 <sup>9</sup> )	27,5±5,5	9,56±1,3	0,023
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media)</b>			

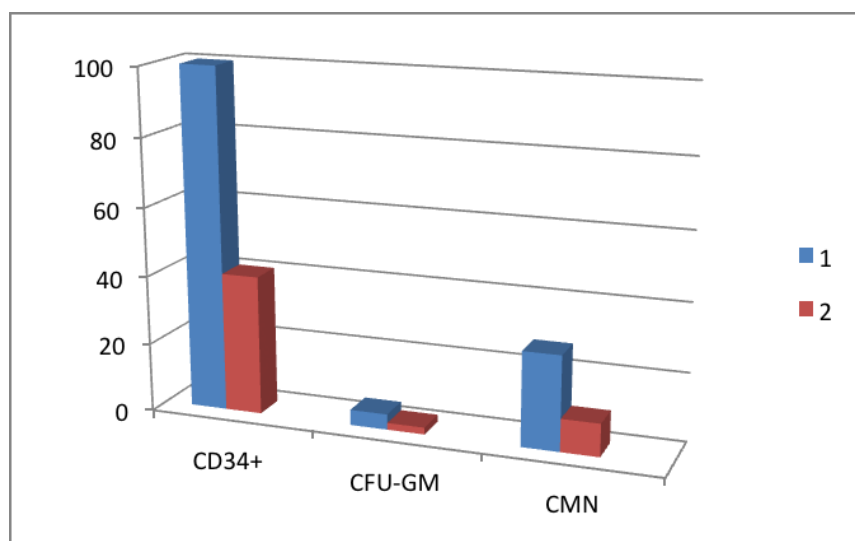


Figura 97: CD34<sup>+</sup>, CFUGM y CMN basales en función al número de tratamientos previos recibidos en LMC.

En las bolsas de aféresis ocurre lo mismo que en las circulante, la recogida de las CD34<sup>+</sup> fue muy alta en los tratados únicamente con una línea pero sin llegar a ser estadísticamente significativo, probablemente por el mismo motivo citado antes.

Sólo en las CMN recogidas en la primera bolsa alcanzó una p de 0,043 a favor de los menos tratados (tabla 106 y figura 98).

Al comparar la recuperación celular según una línea o dos líneas de tratamiento, no encontramos diferencias significativas entre los dos grupos, aunque la recuperación fue

buena (cercana o mayor del 100%) en ambas bolsas con excepción de las CD34+ que solo fue del 62,4% en los más tratados (tabla 106).

**Tabla 106: Comparación de los progenitores hematopoyéticos obtenidos en la primera y segunda bolsa según las líneas de tratamiento previas y porcentaje de recuperación respecto a los circulantes pre-aféresis en el grupo de LMC.**

Líneas (N)		1 (n=7)	2 (n=5)	P
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	495,9±467,3	36,6±3,4	NS
		Rec.(%)	62,4±11,2	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	69,7±6,7	10,3±0,4	NS
		Rec.(%)	801,7±513,4	493,1±379,4
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	18,8±2,9	10,0±2,0	NS
		Rec.(%)	175,0±8,4	134,4±18,3
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	558,7±524,9	51,2±9,9	NS
		Rec.(%)	78,7±17,0	NS
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	40,3±3,7	12,6±0,6	NS
		Rec.(%)	1080,5±776,2	283,6±211,8
	CMN (nx10 <sup>4</sup> )	22,2±3,1	14,7±3,2	NS
		Rec.(%)	174,7±8,4	140,9±6,2

VALOR (media +/- error estándar de la media). NS.: no significativo. Rec.(%), porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis

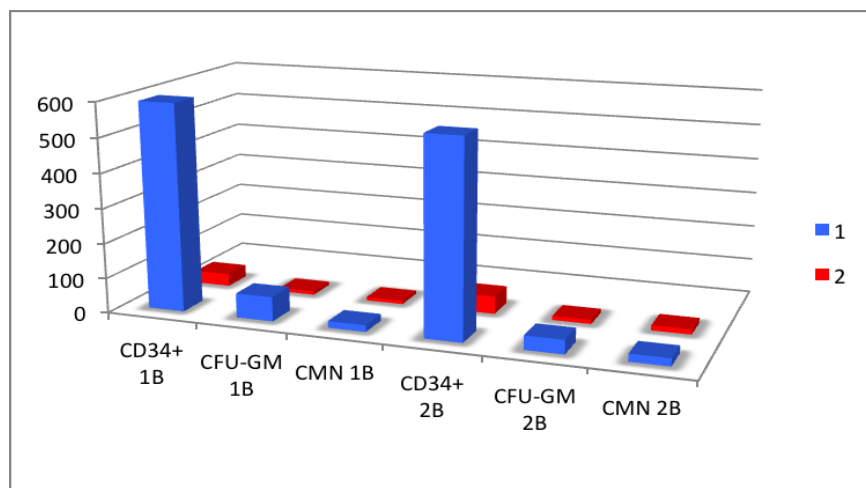


Figura 98: CD34<sup>+</sup>, CFUGM y CMN totales obtenidas en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis en función al número de tratamientos previos recibidos en LMC

Las células CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes fueron de 9,4x10<sup>6</sup>/kg en los casos que habían recibido una línea de tratamiento previa y de 0,6 x10<sup>6</sup>/kg en los que habían recibido dos líneas; obteniéndose, en las dos bolsas de la aféresis un total de 13,9x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/kg en el primer caso y de 1,3x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup>/kg en el segundo (tabla 107, figura 99).

**Tabla 107: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en LMC.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	1 (n=7)	2 (n=5)
Circulantes	9,4±8,7	0.6±0.2
Primera bolsa	6,5±6,1	0.5±0.0
Segunda bolsa	7,4±6,9	0.8±0,1
<b>Total bolsas</b>	<b>13,9±13,0</b>	<b>1.3±0.1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>		

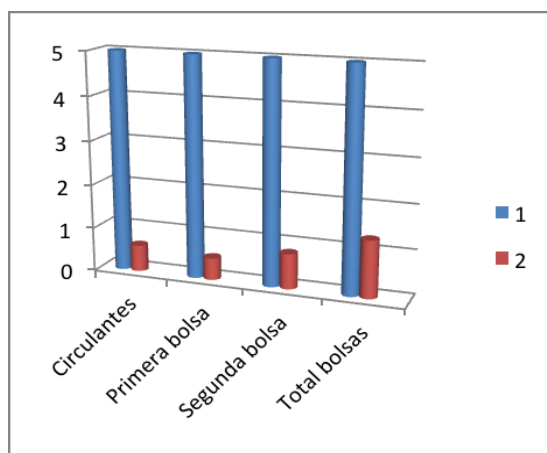


Figura 99: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total según las líneas de tratamiento previas en LMC.

## 2.10 OTROS DIAGNÓSTICOS

Este grupo, al ser un grupo pequeño y heterogéneo, solo exponemos los datos de PH circulantes basales y tras dos volemias, así como las CD34<sup>+</sup>/kg obtenidas en las aféresis.

A pesar de ser escaso y heterogéneo, siguió la tendencia observada en el resto de patologías disminución de las células CD34<sup>+</sup> y CMN circulantes tras la segunda volemia y aumento de las CFU-GM. Esa diferencia sólo alcanzó significación estadística en el caso de las CD34<sup>+</sup> (tabla 108).

**Tabla 108: Células totales circulantes antes de cada aféresis y tras el procesamiento de dos volemias en el grupo de otros.**

	CMNT (x10 <sup>9</sup> )	CD34 <sup>+</sup> (x10 <sup>6</sup> )	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )
Pre-aféresis	13,8±124,6	181,6,±112,3	6,5±3,0
Mitad de aféresis (tras dos volemias)	10,8±1,4	112,4±72,7*	8,0±3,4

\*:diferencia significativa con los valores pre-aféresis (p<0,001)

Las CD34<sup>+</sup>/kg obtenidas fue , tras la primera bolsa cercana a los 2,0x10<sup>6</sup>/kg y se superó tras la suma de las otras dos (tabla 109 y figura 100).

**Tabla 109: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.**

	CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)
Circulantes	2,3±1,3
Primera bolsa	1,5±0,8
Segunda bolsa	1,5±0,8
Total bolsas	3,0±1,6
<b>Media± error estándar de la media</b>	

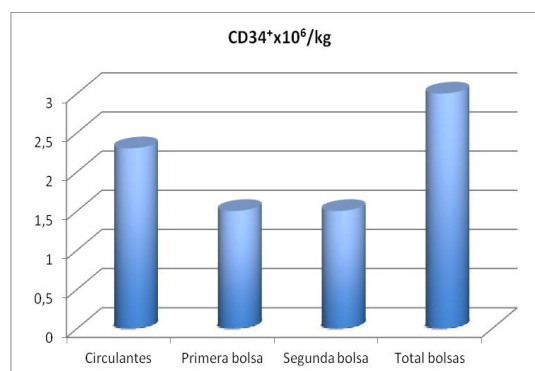


Figura 100: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total.

## 2.11 ESTUDIO COMPARATIVO DEL RENDIMIENTO DE LA AFÉRESIS ENTRE LOS DIFERENTES DIAGNÓSTICOS

Analizamos el impacto de los diferentes diagnósticos en el rendimiento de las aféresis de alto volumen, para ello comparamos el porcentaje de recuperación celular de cada bolsa (respecto a los totales circulantes pre-aféresis)



### 2.11.1 RECUPERACIÓN DE PROGENITORES EN LA PRIMERA MITAD DE LA AFÉRESIS

En primer lugar, comparamos la recuperación celular de los PH en la primera bolsa de aféresis (tras dos volemias, aféresis estándar), cuyos resultados se muestran en la tabla 110 y figura 101.

**Tabla 110: Comparación de la recuperación (%) de los progenitores hematopoyéticos en la primera bolsa, respecto a los valores totales pre-aféresis, por diagnóstico.**

	CD34 <sup>+</sup>	CFU-GM	BFU-E	CFU-GMME	CMN
MM	100,4±6,2 <sup>a,c</sup>	378,3±60,8 <sup>b</sup>	204,5±42,4	333,0±81,6	90,3±2,3
LNH	111,7±10,3 <sup>d</sup>	296,7±51,7	301,5±69,6	306,2±72,8	95,0±4,3
EH	110,6±25,3 <sup>a</sup>	342,6±133,5	176,6±46,8	353,0±100,7	117,8±8,6
LLC	95,0±13,3	187,8±40,1 <sup>b</sup>	197,2±55,0	318,2±113,3	99,0±5,7
LMA	88,1±6,9	318,5±56,8	315,7±78,5	362,6±148,4	87,3±4,2
LLA	108,1±17,7	379,8±113,7	ND	ND	82,4±10,4
MAMA	79,4±5,1 <sup>c,d</sup>	391,1±81,1	ND	ND	86,6±4,0
LMC	88,4±17,0	617,5±273,6	ND	ND	84,0±7,3
<b>VALOR expresado en % (media ± EEM (error estándar de la media))</b>					
a: MM vs. EH (p=0,032)			c: MM vs. ca. mama (p=0,020)		
b: MM vs. LLC (p=0,010)			d: LNH vs. ca. mama (p=0,016)		

Observamos que la recuperación en esta primer bolsa en todas las patologías se acerca al 100% o superior en cada uno de los PH. En lo que respecta a las CD34+ el mayor porcentaje de recuperación se obtuvo en los pacientes con MM, LNH, EH y LLA que alcanzaron más del 100%,.

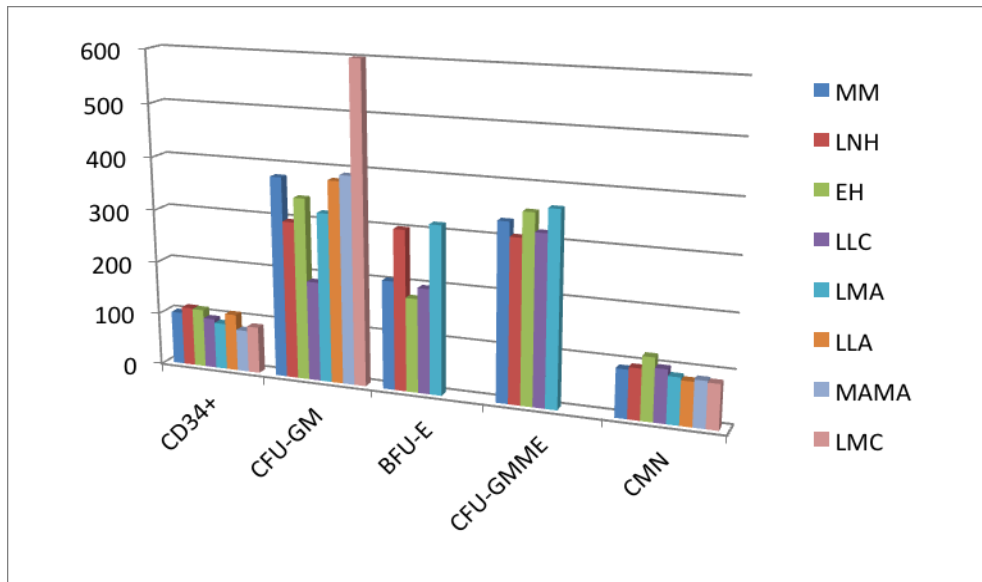


Figura 101: Gráfica recuperación de progenitores hematopoyéticos de la primera bolsa en las diferentes patologías.

### 2.11.2 RECUPERACIÓN DE PROGENITORES EN LA SEGUNDA MITAD DE LA AFÉRESIS

Después estudiamos las recuperaciones en la segunda bolsa (tras la tercera y cuarta volemia), aquí ya podemos hablar de aféresis de altas volemias y los resultados se muestran en la tabla 111 y figura 102.

**Tabla 111: Comparación de la recuperación (%) de los progenitores hematopoyéticos en la segunda bolsa según el diagnóstico.**

	CD34 <sup>+</sup>	CFU-GM	BFU-E	CFU-GMME	CMN
MM	134,4±11,0	340,4±56,3	222,0±34,7	361,8±62,7	108,5±3,0 <sup>a,f</sup>
LNH	139,1±10,4 <sup>b</sup>	399,9±108,2	348,9±120,0	517,2±235,6	131,2±12,2 <sup>c</sup>
EH	116,7±9,3	337,1±90,1	228,2±76,6	708,3±324,5	136,9±20,3
LLC	106,4±12,1	293,4±76,7	506,5±223,0	536,4±204,7	133,1±11,5 <sup>d,f,g</sup>
LMA	102,8±8,0	200,6±38,5 <sup>e</sup>	794,5±342,5	444,4±159,1	106,18±5,8 <sup>g,h</sup>
LLA	95,1±18,5	368,7±155,4	ND	ND	94,9±10,7 <sup>h</sup>
MAMA	104,2±7,7 <sup>b</sup>	545±164,9 <sup>e</sup>	ND	ND	112,1±5,6 <sup>a,c,d</sup>
LMC	110,6±18,0	622,7±339,3	ND	ND	110,8±12,2
<b>VALOR expresado en % (media +/- error estándar de la media)</b>					
a: MM vs ca. mama (p=0,007)			e: LMA vs. ca. mama (p=0,028)		
b: LNH vs. ca. mama (p=0,016)			f: MM vs. LLC (p=0,006)		
c: LNH vs. ca. mama (p=0,046)			g: LLC vs. LMA (p=0,023)		
d: LLC vs. ca. mama (p=0,043)			h: LLC vs. LLA (p= 0,039)		

Tanto para el grupo completo como desglosando por patologías, la recuperación celular fue mayor en la segunda bolsa que en la primera y en todos los PH con excepción únicamente de las CFU-GM en el grupo de MM.

Las diferencias estadísticamente significativas, al comparar las CD34<sup>+</sup> únicamente se observó LNH frente a EH (139% vs 104%, respectivamente).

En cuanto al resto de PH las diferencias estadísticamente significativas se describen en la tabal 111.

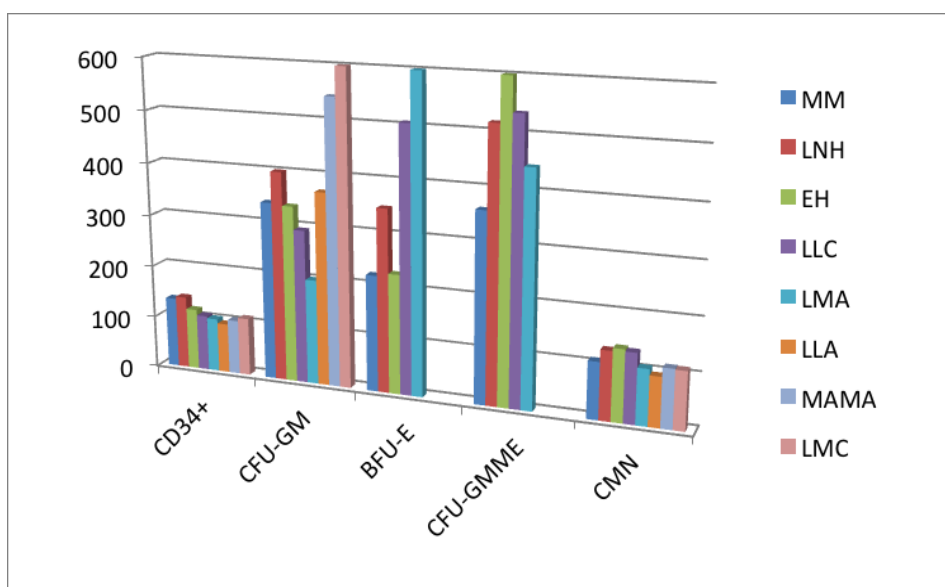


Figura 102: Gráfica recuperación de progenitores hematopoyéticos de la segunda bolsa en las diferentes patologías

## 2.12 REPERCUSIÓN DE LA EDAD Y EL SEXO EN EL RENDIMIENTO DE LA AFÉRESIS

### 2.12.1 RENDIMINETO DE LA AFÉRESIS EN FUNCIÓN A LA EDAD DE LOS PACIENTES

Estudiamos la influencia de la edad en eficacia de las aféresis. Hicimos dos grupos de acuerdo a la mediana de edad (49 años (9-71)) y comparamos los resultados de las aféresis.

### 2.12.1.1 DATOS DE CÉLULAS TOTALES CIRCULANTES

Al estudiar los PH según la media de edad de nuestros pacientes, a ser una población homogénea sin un número importante de pacientes en los extremos de edad (< de 18 y/o > 65 años), no encontramos diferencias significativas ni en los PH circulantes basales, ni en las aféresis ni en su recuperación.

En las figuras 103 y 104 se muestran las PH circulantes y en las bolsa de aféresis y en la tabla 115 la recuperación celular.

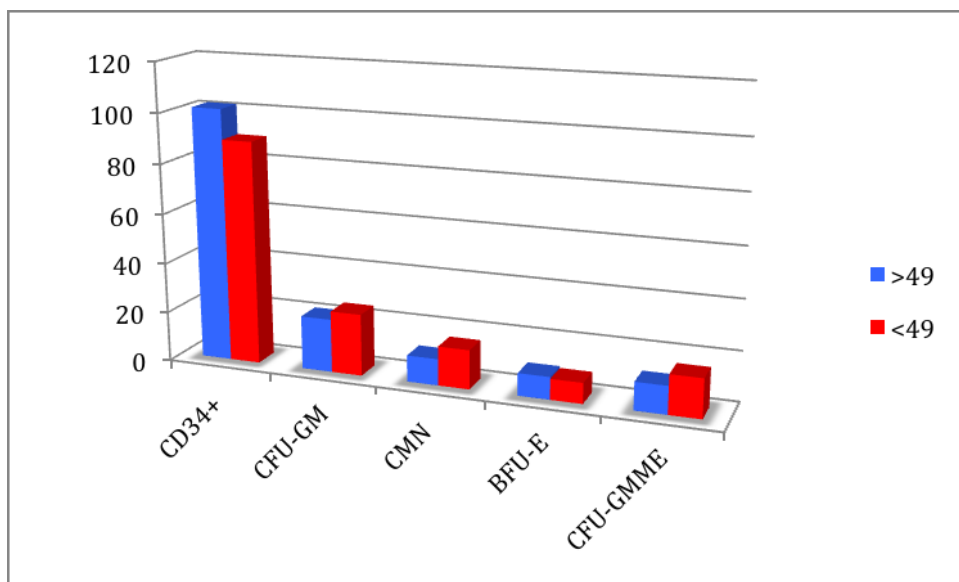


Figura 103: Comparación de los progenitores hematopoyéticos basales en los pacientes en función a la mediana de edad (49 años).

## RESULTADOS

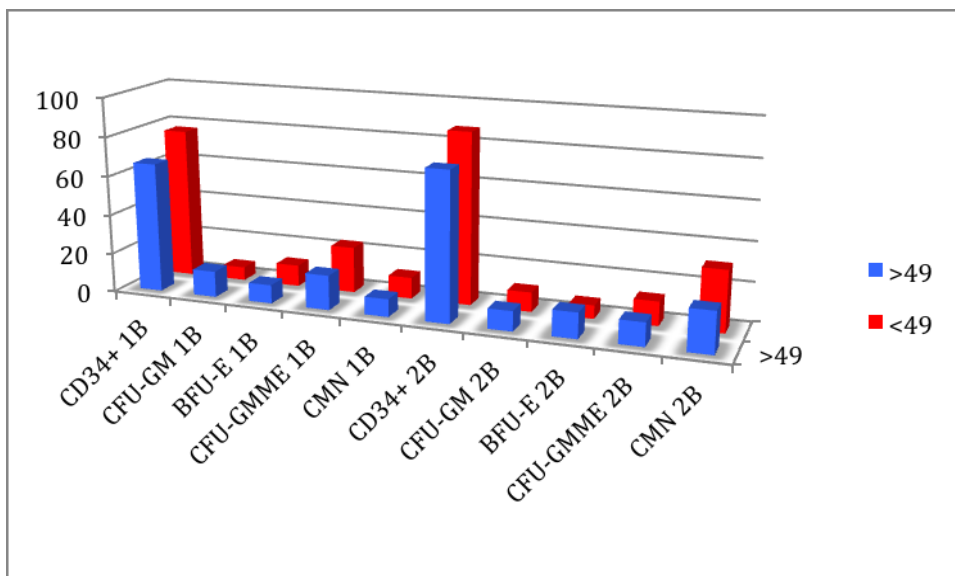


Figura 104: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, CMN, BFU-E y CFU-GMME en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis.

**Tabla 112: Porcentaje de recuperación CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis según la mediana de edad (49 años).**

Mediana edad	>49	<49	p
CD34 <sup>+</sup> Rec. 1ªbolsa	100,0±4,8	97,8±6,9	NS
CFU-GM Rec. 1ªbolsa	516,6±151,6	516,6±151,6	NS
BFU-E Rec. 1ªbolsa	248,0±37,6	221,5±40,0	NS
CFU-GMME Rec. 1ªbolsa	333,6±57,7	315,3±67,6	NS
CMN Rec. 1ªBolsa	92,5±2,5	89,4±2,0	NS
CD34 <sup>+</sup> Rec. 2ªbolsa	131,6±7,6	112,4±4,7	NS
CFU-GM Rec. 2ªbolsa	454,9±87,1	399,5±78,5	NS
BFU-E Rec. 2ªbolsa	335,6±62,2	338,5±120,6	NS
CFU-GMME Rec. 2ªbolsa	447,4±105,9	499,7±36,7	NS
CMN Rec. 2ªBolsa	126,5±7,4	108,7±2,7	NS
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media) %</b>			

### 2.12.2 HOMBRES *versus* MUJERES

Al comparar la eficacia de las aféresis según el sexo, observamos, primero, una distribución homogénea, tanto en el número de pacientes (104 hombres frente a 112 mujeres) como en el número de las aféresis realizadas (230 vs 303).

Al igual que en el apartado anterior, no encontramos diferencias significativas en los PH basales ni en las recogidas en las bolsas de aféresis, a excepción de la recuperación de CD34<sup>+</sup> en ambas bolsas a favor de los hombres con una  $p=0,022$  y  $0,013$  en la primera y segunda bolsa respectivamente, así como de una recuperación superior de CFU-GM en mujeres ( $p=0,042$ ) (tabla 113 y figura 105).

En la figura 105 se muestran los PH circulantes basales en función a la edad y en la tabla 113 la recuperación celular en ambas bolsas de aféresis.

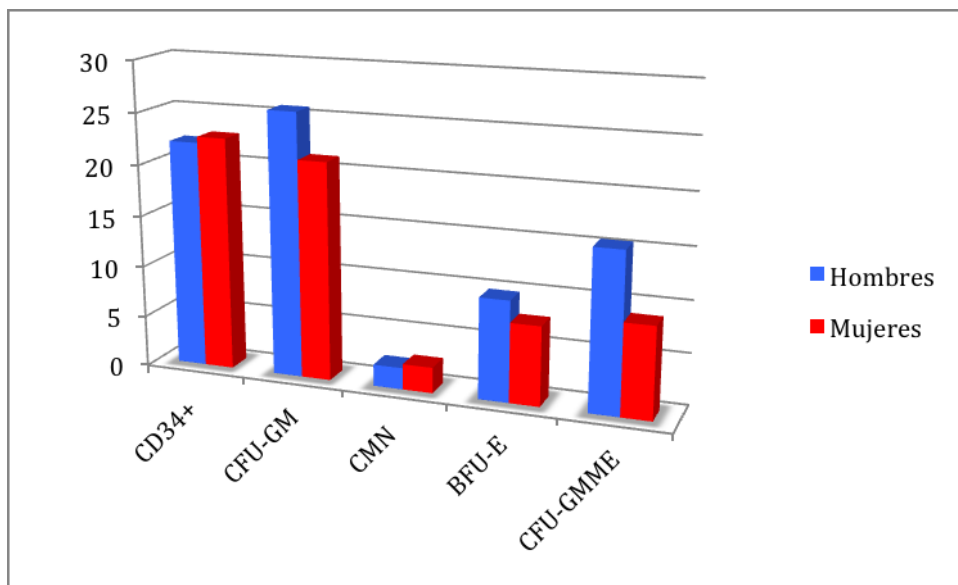


Figura 105: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según el sexo.

**Tabla 113: Porcentaje de recuperación CD34, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis según el sexo.**

Sexo	Hombres	Mujeres	p
CD34 <sup>+</sup> Rec. 1ªbolsa	110,7±8,4	89,8±3,5	0,022
CFU-GM Rec. 1ªbolsa	291,7±37,0	784,0±237,6	0,042
BFU-E Rec. 1ªbolsa	230,9±39,3	251,6±44,9	NS
CFU-GMME Rec. 1ªbolsa	270,6±46,1	387,0±79,3	NS
CMN Rec. 1ªBolsa	95,4±2,8	110,82±23,3	NS
CD34 <sup>+</sup> Rec. 2ªbolsa	135,6±7,9	111,9±5,1	0,013
CFU-GM Rec. 2ªbolsa	332,3±69,0	504,0±89,9	NS
BFU-E Rec. 2ªbolsa	312,1±68,0	361,0±88,6	NS
CFU-GMME Rec. 2ªbolsa	460,5±150,1	461,7±85,4	NS
CMN Rec. 2ªBolsa	122,1±7,4	114,2±4,0	NS
<b>VALOR (media +/- error estándar de la media) %</b>			

## **2.13 REPERCUSIÓN DEL RECUENTO DE CÉLULAS CD34<sup>+</sup> Y DE PLAQUETAS EN EL RENDIMIENTO DE LAS AFÉRESIS**

En este apartado estudiamos el impacto de la cifra de células CD34<sup>+</sup> y de plaquetas pre-aféresis en la eficacia de la AAV.

### **2.13.1 REPERCUSIÓN DEL RECUENTO DE CÉLULAS CD34<sup>+</sup> EN EL RENDIMIENTO DE LAS AFÉRESIS**

Estudiamos la incidencia de la cantidad de CD34<sup>+</sup> circulantes en el rendimiento de la aféresis, para ello comparamos las aféresis realizadas en dos grupos: 1) las aféresis realizadas con un número de CD34<sup>+</sup> pre-aféresis mayor que la mediana y 2) aquellas con un número de CD34<sup>+</sup> menor que la mediana, que fue de 8,8 CD34<sup>+</sup>/μL.

#### **2.13.1.1 CÉLULAS TOTALES CIRCULANTES**

Las cifras basales pre-aféresis de todos los progenitores hematopoyéticos fueron mayores en el grupo de CD34<sup>+</sup> > 8,8/μL con un nivel de significación muy alto (p< 0,001). Llamativamente la media basal de CMN fue mayor en el grupo de aféresis con recuento

inicial de CD34<sup>+</sup> basales por debajo de la mediana, aunque sin diferencias significativas (tabla 114, figura 106).

**Tabla 114: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la mediana de CD34<sup>+</sup> basales.**

CD34 <sup>+</sup> (μL)	>8,8	<8,8	p
CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	175,21±21,35	15,35±0,68	<0,001
CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	7,16±0,80	1,60±0,19	<0,001
CMN (x10 <sup>9</sup> )	12,33±0,47	13,87±5,65	NS
BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	15,33±1,87	3,59±0,56	<0,001
CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	23,46±2,56	3,41±0,54	<0,001

**VALOR (media +/- error estándar de la media)**

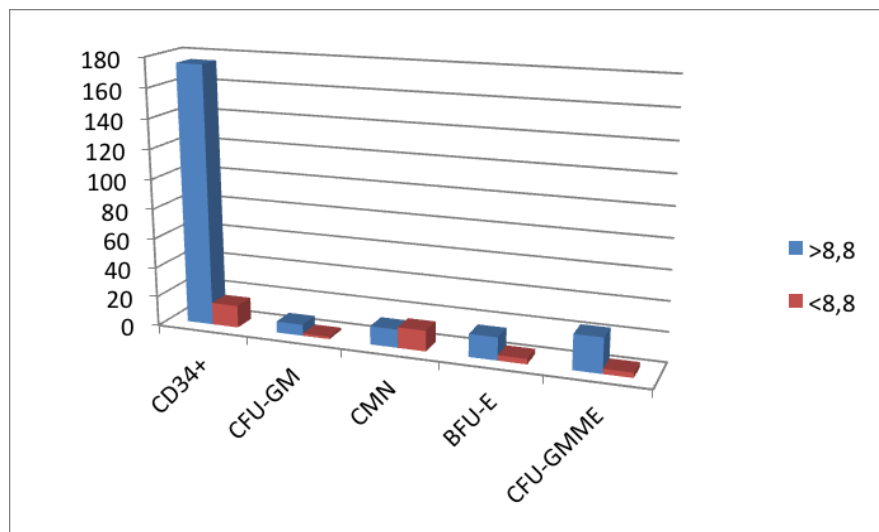


Figura 106: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la mediana de CD34<sup>+</sup> basales.

### 2.13.1.2 CÉLULAS OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

En los datos de las bolsas los procesos iniciados con CD34<sup>+</sup> basales mayor que la mediana obtuvieron mejores resultados en cuanto a recolección de todos los progenitores estudiados, como era de esperar, con diferencia significativa en todos los casos, excepto en las CMN de la primera bolsa, que aunque se recolectaron en mayor número en el grupo de aféresis con CD34<sup>+</sup> de partida > 8,8/μL, no obtuvieron significación estadística (tabla 115 y figura 107).



## RESULTADOS

Curiosamente, la eficacia de las aféresis (recuperación de células CD34<sup>+</sup>) en ambas bolsas fue significativamente mayor en el grupo de CD34<sup>+</sup> menor que la mediana (111% y 146%) que en el grupo con CD34<sup>+</sup> mayor que la mediana (86% y 99%) p<0,001. Los cultivos clonogénicos dieron resultados variables; así mientras que la recuperación de CFU- GM fue mayor en el grupo con células basales más CD34 + , la recuperación de BFU-E fue menor en dicho grupo (tabla 115).

**Tabla 115: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis y su recuperación según la mediana de CD34<sup>+</sup> basales.**

CD34 <sup>+</sup> (μL)		>8,8	<8,8	p
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	127,81±4,48	14,71±0,75	<0,001
	Rec.(%)	86,72±5,11	111,67±6,57	<0,001
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	14,70±1,79	5,37±0,64	<0,001
	Rec.(%)	858,97±262,88	269,64±32,64	0,02
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	14,75±1,92	5,85±0,78	<0,001
	Rec.(%)	197,86±36,10	281,36±46,17	NS
	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	34,37±4,24	7,00±0,98	<0,001
	Rec.(%)	207,22±29,63	437,61±81,22	0,009
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup> (n x10 <sup>6</sup> )	142,47±15,86	19,79±1,21	<0,001
	Rec.(%)	99,23±3,44	146,28±8,30	<0,001
	CFU-GM (nx10 <sup>4</sup> )	13,59±2,00	6,43±0,95	0,001
	Rec.(%)	457,07±96,81	269,64±32,64	NS
	BFU-E (nx10 <sup>4</sup> )	17,02±1,95	8,07±1,21	<0,001
	Rec.(%)	197,86±36,10	281,36±46,17	0,01
	CFU-GMME (nx10 <sup>4</sup> )	40,38±5,53	10,32±1,97	<0,001
	Rec.(%)	256,89±34,57	641,42±156,16	0,018
CMN (nx10 <sup>4</sup> )		12,57±0,68	9,24±0,45	<0,001
	Rec.(%)	110,6±4,6	124,7±6,4	NS
VALOR (media +/- error estándar de la media)				
Recup. %, porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis.				

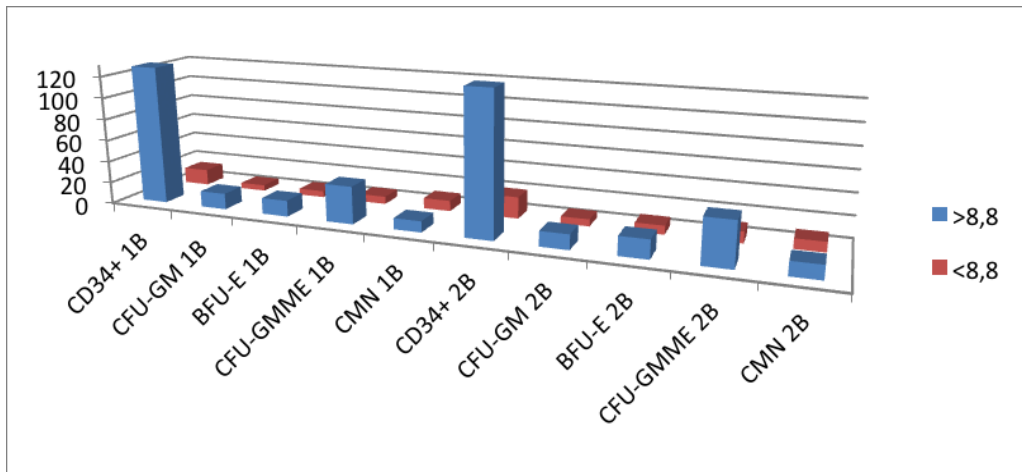


Figura 107: Cantidad de células CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis según la mediana de CD34<sup>+</sup> basales.

### 2.13.1.3 DATOS DE CD34<sup>+</sup>/KG EN LAS BOLSAS DE AFÉRESIS

Las cantidad de células CD34<sup>+</sup>x10<sup>6</sup>/Kg circulantes calculada fue de 2,4 y de 0,2 en el grupo con CD34+ basales mayor y menor que la mediana respectivamente, obteniéndose 3,8x10<sup>6</sup>/Kg (158%) en el grupo con CD34+ basales > mediana tras completarse la aféresis y de 0,5x10<sup>6</sup>/Kg (250%) en el grupo con CD34+ basales < mediana (tabla 116,y figura 108).

**Tabla 116: CD34 (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total en función a la cifra de CD34<sup>+</sup> basal.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	>8,8	<8,8
<b>Circulantes</b>	2,4±0,3	0,2±0,0
<b>Primera bolsa</b>	1,8±0,2	0,2±0,0
<b>Segunda bolsa</b>	2,0±0,2	0,3±0,0
<b>Total bolsas</b>	<b>3,8±0,4</b>	<b>0,5±0,0</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>		

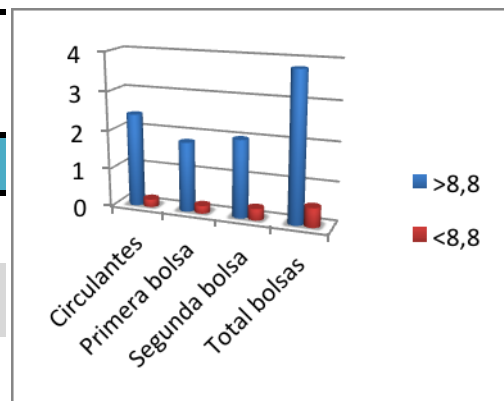


Figura 108: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total.

### 2.13.2 REPERCUSIÓN DEL RECUENTO DE PLAQUETAS EN EL RENDIMIENTO DE LAS AFÉRESIS

Durante el procedimiento de aféresis se produce una disminución importante de la cantidad de plaquetas circulantes, ya que son recogidas por la máquina de aféresis junto con las CMN en la capa leucoplaquetar. Estudiamos la influencia de la cifra de plaquetas en la recuperación de los PH, por si la trombocitopenia tuviera alguna incidencia en el efecto movilizador de la aféresis.

La mediana del número de plaquetas previas a cada aféresis, en nuestro estudio, fue de  $99 \times 10^9/L$  y separamos en dos grupos en función a esta cifra.

#### 2.13.2.1 DATOS DE CÉLULAS TOTALES CIRCULANTES

Obtuvimos los datos absolutos en el paciente antes de iniciar la aféresis del recuento de  $CD34^+$ , CFU-GM, BFU-E, CFU-GMME, y CMN. Todos los valores medios de los distintos progenitores hematopoyéticos eran menores en los casos de plaquetas menor de la mediana (tabla 117 y figura 109).

**Tabla 117: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la cifra basal de plaquetas.**

	Plaquetas $>99 \times 10^9/L$	Plaquetas $<99 \times 10^9/L$	p
CD34 <sup>+</sup> ( $n \times 10^6$ )	141,95 ± 21,56	48,94 ± 4,84	<0,001
CFU-GM ( $n \times 10^4$ )	6,42 ± 0,73	2,27 ± 0,38	<0,001
CMN ( $\times 10^9$ )	11,83 ± 0,49	14,38 ± 5,69	NS
BFU-E ( $n \times 10^4$ )	12,51 ± 1,67	4,45 ± 0,65	NS
CFU-GMME ( $n \times 10^4$ )	17,51 ± 2,20	6,22 ± 1,36	<0,001

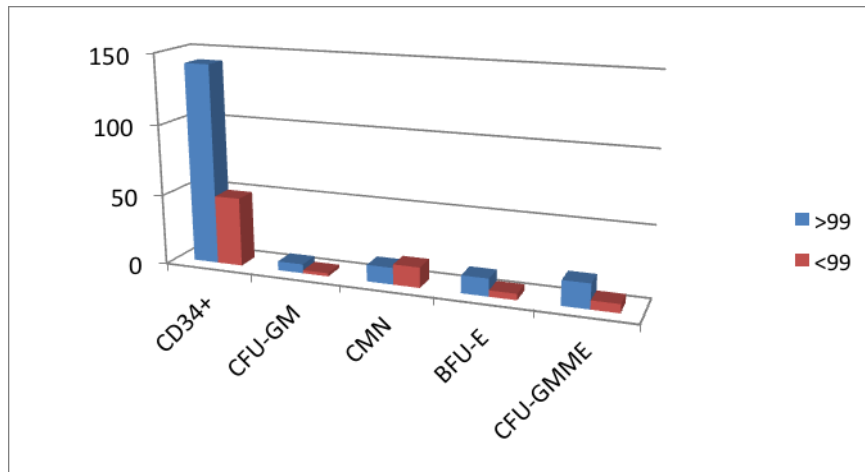


Figura 109: Comparación de progenitores hematopoyéticos basales según la cifra basal de plaquetas.

### 2.13.2.2 DATOS DE CÉLULAS TOTALES OBTENIDAS EN LAS AFÉRESIS

Los datos obtenidos de  $CD34^+$ , CFUGM, BFU-GM, mixtas y CMN tanto en la primera bolsa (tras dos volemias a mitad de la aféresis) como en la segunda bolsa (tras 4 volemias), se muestran en la tabla 118 y en la figura 110.

En las bolsas de aféresis, al igual que en los PH basales, las mayores cifras se recogieron en el grupo con más plaquetas basales, en todos los PH excepto en las CMN, y en todos se alcanzó diferencia estadísticamente significativa. Con respecto a las  $CD34^+$  la cifra en el grupo de mayor plaquetas basales fue de casi tres veces en ambas bolsas con respecto al grupo de menor cifra basal de plaquetas.

En lo que respecta al porcentaje de las recuperaciones no se encontraron diferencias significativas en ambos grupos. En ambos grupos el porcentaje de  $CD34^+$  fue cercano al 100% en la primera y 120% en la segunda bolsa, y > al 200% en el resto de células en ambas bolsas.

## RESULTADOS

**Tabla 118: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis y su recuperación según la cifra basal de plaquetas**

Cifra plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L)			>99	<99	p
1ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	101,04±14,55	38,74±3,87	<0,001
		Rec.(%)	99,73±6,05	98,20±5,77	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	13,73±1,73	6,32±0,81	<0,001
		Rec.(%)	766,21±253,95	350,69±42,67	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	12,17±1,59	6,99±1,10	0,008
		Rec.(%)	211,42±33,66	278,32±51,84	NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	26,58±3,48	10,46±2,22	<0,001
		Rec.(%)	307,36±52,09	357,02±81,94	NS
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	10,14±0,38	9,68±2,40	NS
		Rec.(%)	118,4±26,1	89,6±2,6	NS
2ª bolsa	CD34 <sup>+</sup>	(n x10 <sup>6</sup> )	116,77±15,90	45,77±4,41	<0,001
		Rec.(%)	123,55±6,61	121,05±6,25	NS
	CFU-GM	(nx10 <sup>4</sup> )	13,67±2,05	6,31±0,79	0,001
		Rec.(%)	419,23±85,69	438,84±80,21	NS
	BFU-E	(nx10 <sup>4</sup> )	14,46±1,68	9,10±1,45	0,018
		Rec.(%)	267,89±61,18	422,01±98,45	NS
	CFU-GMME	(nx10 <sup>4</sup> )	36,08±4,96	8,92±1,14	<0,001
		Rec.(%)	520,24±144,56	386,22±65,77	NS
	CMN	(nx10 <sup>4</sup> )	11,67±0,42	10,11±0,72	NS
		Rec.(%)	122,6±6,6	112,7±4,3	NS

VALOR (media +/- error estándar de la media)  
Rec.(%): porcentaje respecto a los circulantes pre-aféresis.

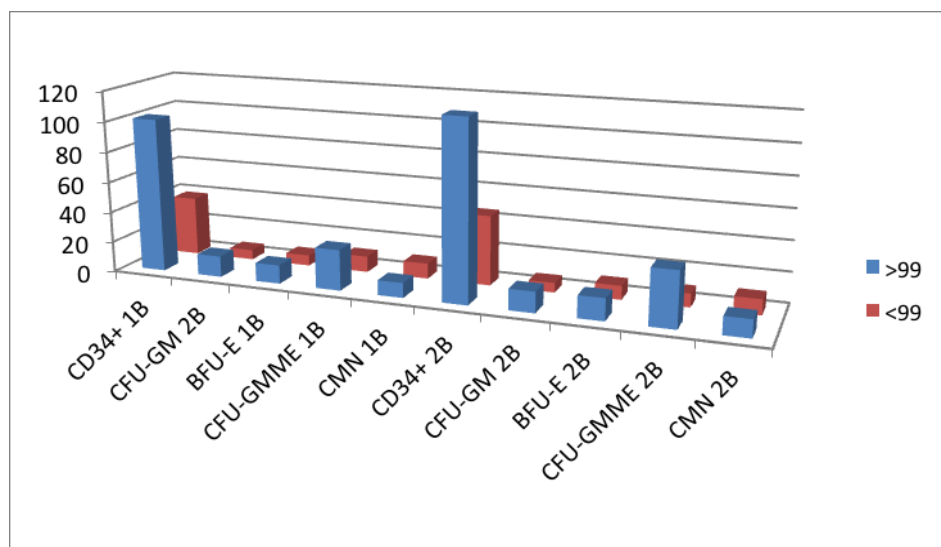


Figura 110: CD34<sup>+</sup>, CFUGM, BFU-E, CFU-GMME y CMN en la 1ª y 2ª bolsa de aféresis según la cifra basal de plaquetas.

**2.13.2.3 DATOS DE CD34<sup>+</sup>/KG EN LAS BOLSAS DE AFÉRESIS**

Las células CD34<sup>+</sup>/Kg circulantes calculadas fueron de 1,9 y de 0,7 en el grupo con plaquetas >99x10<sup>9</sup>/L con plaquetas <99x10<sup>9</sup>/L respectivamente, obteniéndose 3,1 y 1,2 CD34<sup>+</sup>/Kg en el producto total de la aféresis en cada uno de los grupos (tabla 119 y figura 111).

**Tabla 119: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total en función a la cifra de plaquetas basales.**

CD34 <sup>+</sup> (nx10 <sup>6</sup> /kg)	>99	<99
<b>Circulantes</b>	1,9±0,3	0,7±0,1
<b>Primera bolsa</b>	1,5±0,2	0,5±0,0
<b>Segunda bolsa</b>	1,6±0,2	0,6±0,1
<b>Total bolsas</b>	<b>3,1±0,4</b>	<b>1,2±0,1</b>
<b>Media± error estándar de la media</b>		

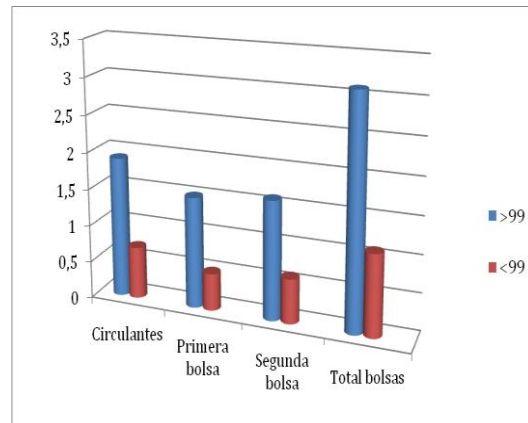


Figura 111: CD34<sup>+</sup> (nx10<sup>6</sup>/kg) circulantes, en ambas bolsas y el total en el grupo total.

**2.14 CORRELACIÓN DE LAS CÉLULAS CIRCULANTES CON LAS OBTENIDAS EN EL PRODUCTO DE AFÉRESIS**

Estudiamos la correlación existente entre las células circulantes pre-aféresis y las obtenidas en cada una de las dos mitades de la aféresis, así como la correlación de las células progenitoras entre sí en cada una de las dos bolsas.

**2.14.1 CORRELACIÓN DATOS PRE-AFERESIS CON LA RECOGIDA EN LA PRIMERA Y SEGUNDA BOLSA**

En la tabla 120, se muestran los resultados del estudio de correlación entre las células circulantes pre-aféresis y las obtenidas en ambas bolsas:

**TABLA 120: Correlación de los datos basales (pre-aféresis) con los recogido durante la misma (primera y segunda bolsa)**

			DATOS DEL PACIENTE PRE-AFERESIS				
			CD34 <sup>+</sup>	CFU-GM	CMN	BFU-E	CFU-GMME
DATOS DEL PRODUCTO DE AFERESIS	CD34 <sup>+</sup> 1ªbolsa	i.c.	0,947	0,211	0,026	0,347	0,582
		P	<0.001	<0.001	0,543	<0.001	<0.001
	CD34 <sup>+</sup> 2ªBolsa	i.c.	0,940	0,186	0,024	0,362	0,617
		P	<0.001	<0.001	0,582	<0.001	<0.001
	CFU-GM 1ªbolsa	i.c.	0,707	0,556	0,041	0,324	0,400
		P	<0.001	<0.001	0,352	<0.001	<0.001
	CFU-GM 2ªBolsa	i.c.	0,472	0,0604	0,033	0,436	0,418
		P	<0.001	<0.001	0,451	<0.001	<0.0001
	BFU-GM 1ªbolsa	i.c.	0,270	0,416	0,362	0,552	0,443
		P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.0001
	BFU-GM 2ªbolsa	i.c.	0,203	0,408	0,466	0,508	0,433
		P	0,009	<0.001	<0.001	<0.001	<0.0001
	CFU-GMME 1ªbolsa	i.c.	0,517	0,527	0,383(*)	0,329	0,651
		P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.0001
	CFU-GMME 2ªbolsa	i.c.	0,438	0,576	0,364(*)	0,478	0,656
		P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.0001
CMN 1ªBolsa	i.c.	0,041	0,032	0,026	0,297	0,403	
	P	0,344	0,116	0,557	<0.001	<0.001	
CMN 2ªBolsa	i.c.	0,148	0,008	0,074	0,257	0,268	
	p	<0.001	0,008	0,089	0,001	<0.001	

\* La correlación es significativa al nivel 0,001 (bilateral).

Comparando los datos pre-recogida con los de la recogida, podemos ver que hubo una correlación directa y positiva de todas las células pre-aféresis con la recogida de las mismas en las dos bolsas, excepto en el caso de las CMN que en las que el valor basal solamente se correlacionó con las CFU-GM y con las CFU-GMME obtenidas en ambas bolsas. Este último dato reafirma lo publicado acerca de la poca fiabilidad de utilizar el parámetro de las CMN para este fin.

### 2.14.2 CORRELACION DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS ENTRE SÍ EN LA PRIMERA BOLSA DE AFÉRESIS

Los PH recogidos en la primera bolsa de aféresis hubo una correlación directa y positiva de todos los PH recogidos en la primera bolsa excepto la de las CMN con las células CD34<sup>+</sup> y las CFU-GM (tabla 121).

**Tabla 124: correlación de PH entre sí en la primera bolsa de aféresis**

		CD34 <sup>+</sup> 1ª bolsa	CFU-GM 1ª bolsa	BFU-E 1ªbolsa	CFU-GMME 1ªbolsa
CFU-GM 1ªbolsa	i.c. P	0,730 <0,001			
BFU-E 1ªbolsa	i.c. P	0,345 <0,001	0,396 <0,001		
CFU-GMME 1ªbolsa	i.c. P	0,580 <0,001	0,492 <0,001	0,439 <0,001	
CMN 1ªBolsa	i.c. P	0,044 0,316	0,017 0,701	0,390 <0,001	0,433 <0,001

En las gráficas de regresión lineal (figura 112) se muestra se aprecia una buena correlación lineal de las células CD34<sup>+</sup> con las CFU-GM, BFU-E y CFU-GMME con una R-cuadrado de 0,53; 0,12 y 0,54 respectivamente.

Con respecto a las CMN, contrariamente a lo que ocurrió con las CD34<sup>+</sup>, observamos que existía una correlación lineal con las BFU-E y CFU-GMME (R-cuadrado de 0,15 y 0,19 respectivamente), pero no con las CD34<sup>+</sup> ni con las CFU-GM (R-cuadrado de 0,00).



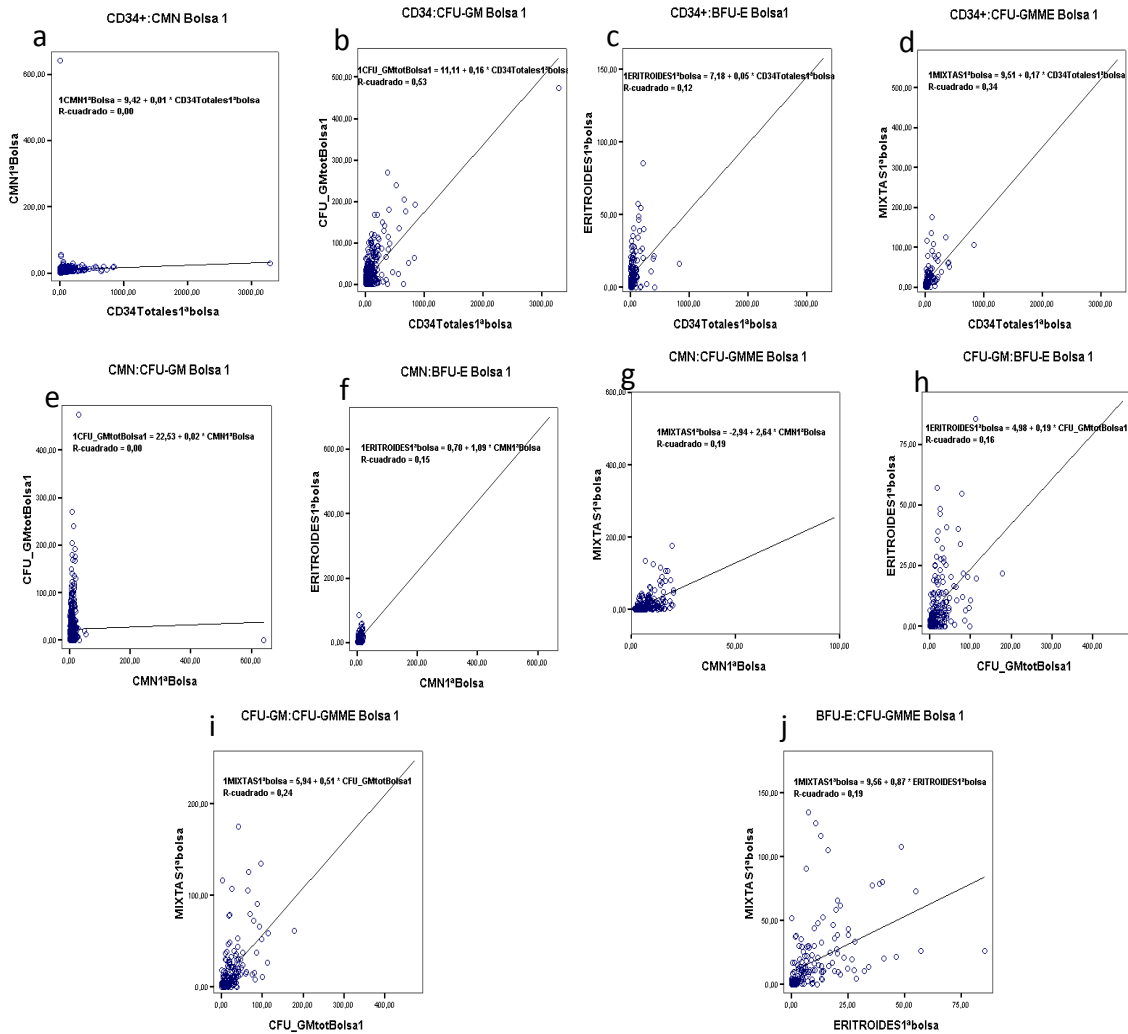


Figura 114: Gráficos de regresión lineal de las células CD34<sup>+</sup> 1ª bolsa con con: (a), CMN (R<sup>2</sup>=0,00), (b) CFU-GM (R<sup>2</sup>=0,53) (c) BFU-E (R<sup>2</sup>=0,12), (d) CFU-GMME (mixtas) (R<sup>2</sup>=0,34). CMN con: (e)CFU-GM (R<sup>2</sup>=0,00), (f) (BFU-E) (R<sup>2</sup>=0,15) y (g) CFU-GMME (mixtas) (R<sup>2</sup>=0,19). CFU-GM con: (h) BFU-E (R<sup>2</sup>=0,16) e (i)DFU-GMME (R<sup>2</sup>=0,24). (j) BFU-E con CFU-GMME (R<sup>2</sup>=0,19)

### 2.14.3 CORRELACION DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS ENTRE SÍ EN LA SEGUNDA BOLSA DE AFÉRESIS

En la tabla 122, se muestran los datos del estudio de correlación de los PH obtenidos en la segunda bolsa de aféresis, entre sí:

**Tabla 122: correlación de PH entre sí en la segunda bolsa de aféresis**

		CD34 <sup>+</sup> 2ª bolsa	CFU-GM 2ª bolsa	BFU-E 2ªbolsa	CFU-GMME 2ªbolsa
CFU-GM 2ªbolsa	i.c. P	0,434 <0,001			
BFU-E 2ªbolsa	i.c. P	0,271 <0,001	0,443 <0,001		
CFU-GMME 2ªbolsa	i.c. P	0,557 <0,001	0,718 <0,001	0,489 <0,001	
CMN 2ªBolsa	i.c. P	0,172 <0,001	0,102(*) 0,019	0,390 <0,001	0,242 0,002

\* La correlación es significativa al nivel 0,001 (bilateral).

Comparando los datos de los PH recogidos en la segunda bolsa de aféresis vimos que hubo una correlación directa y positiva de todos los PH recogidos en la primera bolsa sin ninguna excepción; sin embargo en el estudio de regresión lineal encontramos una débil correlación lineal de las CMN con las CD34<sup>+</sup> (R cuadrado=0,03), con las CFU-GM (R cuadrado=0,01) y con las CFU-GMME (R cuadrado=0,06) (figura 113)

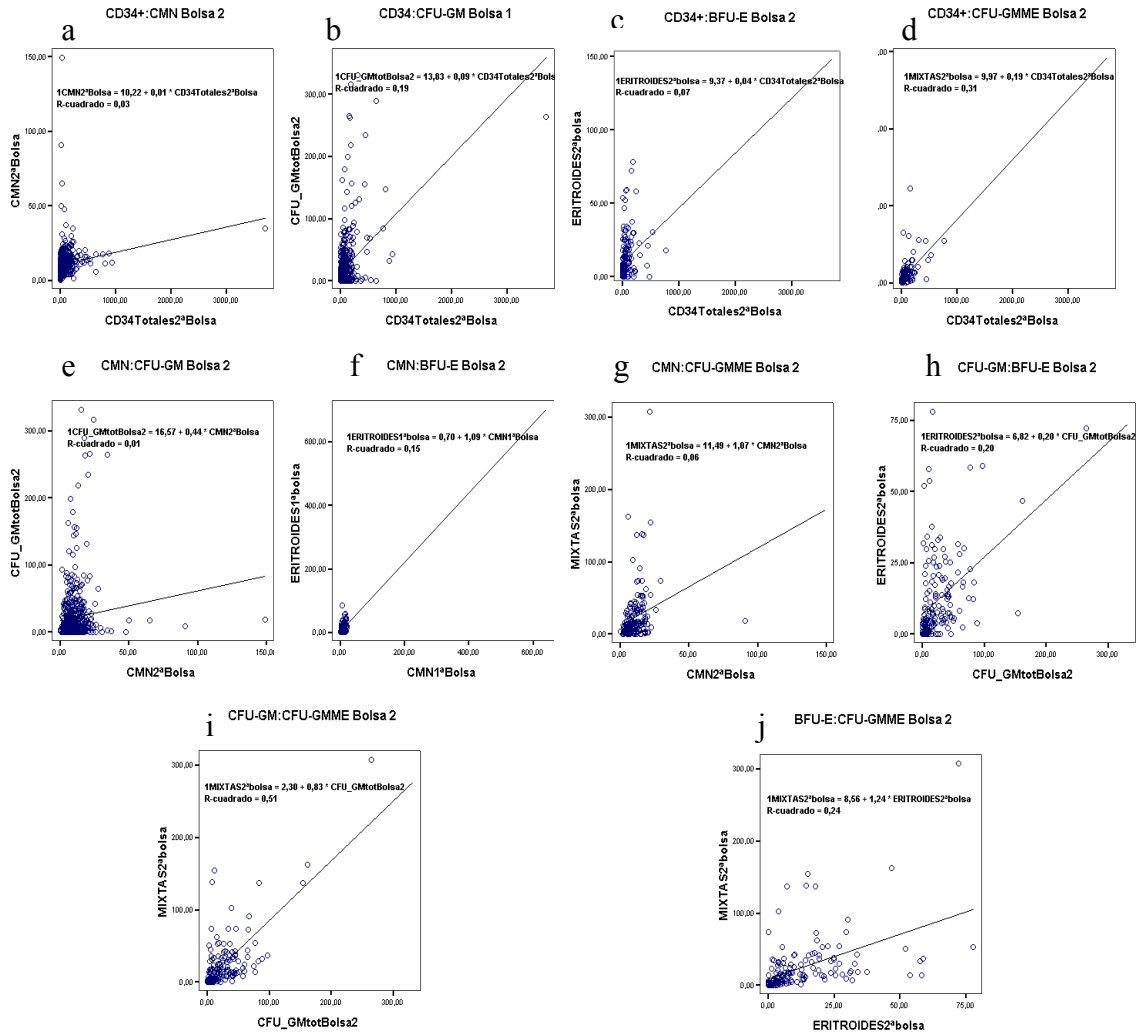


Figura 113: Gráficos de regresión lineal de las células CD34<sup>+</sup> con: (a), CMN (R<sup>2</sup>=0,03) (b) CFU-GM (R<sup>2</sup>=0,19), (c) BFU-E (R<sup>2</sup>=0,07) y (d)CFU-GMME (R<sup>2</sup>=0,31). CMN con: (e) (CFU-GM) (R<sup>2</sup>=0,01) , (f) BFU-E (R<sup>2</sup>=0,15) y (g) CFU-GMME (R<sup>2</sup>=0,06). CFU-GM con: (h) BFU-E (R<sup>2</sup>=0,20) e (i)DFU-GMME (R<sup>2</sup>=0,51). (j) BFU-E con CFU-GMME (R<sup>2</sup>=0,24).

### 3. TRASPLANTES REALIZADOS

En nuestro estudio consideramos MMo a aquellos que presentan menos de 10 CD34<sup>+</sup>/μL basales, siendo buenos movilizadores (BMo) si es mayor esta cifra; además definimos como muy malos movilizadores (MMMo) cuando la cifra era inferior a 5 CD34<sup>+</sup>/μL. Estudiamos la eficacia del trasplante en estos tres grupos de pacientes.

A continuación se exponen los datos del número de aféresis que fueron necesarias para obtener  $\geq 2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>/Kg, el volumen final de PH infundido, la dosis de CD34<sup>+</sup> y de GM-CFU infundidas y la cinética de injerto.

También mostramos días de hospitalización, los días de la fiebre y la necesidad de transfusión de glóbulos rojos concentrados y unidades de plaquetas

#### 3.1 PACIENTES TRASPLANTADOS

De los 216 pacientes sometidos a aféresis, finalmente se trasplantaron 169 de ellos, que incluían: 52 MM, 41 cáncer de mama, 41 LNH, 11 EH, 8 LAM, 7 LLC, 5 LAL, 1 LMC y 3 otros diagnósticos (figura 114).

De estos 216 pacientes, 156 (72,2%) fueron inicialmente considerados buenos movilizadores y 60 (27,8%) malos movilizadores, de estos 60, 28 (13% del total) entraban en la definición de muy malos movilizadores (figura 115).

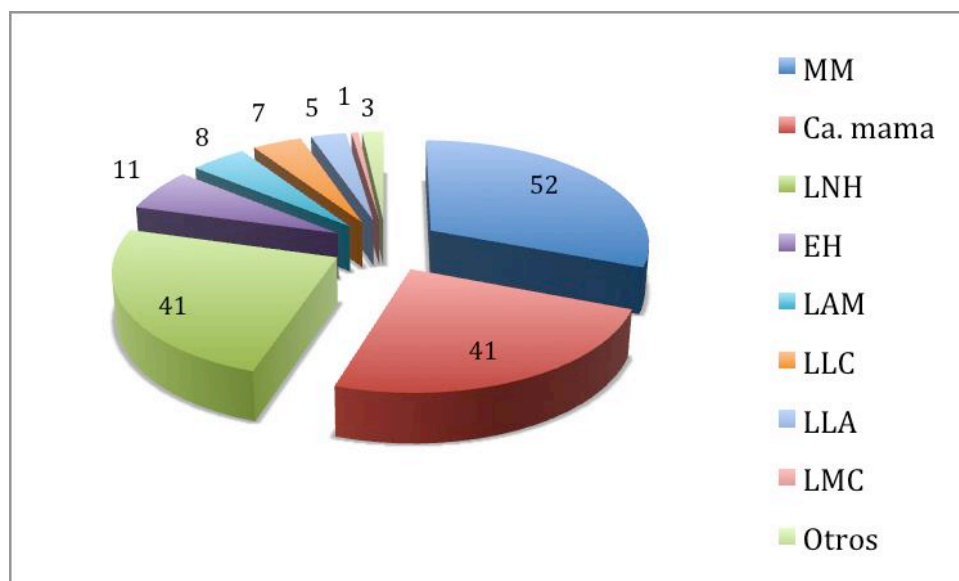


Figura 114: Distribución de pacientes trasplantado (%) en función a la patología de base.

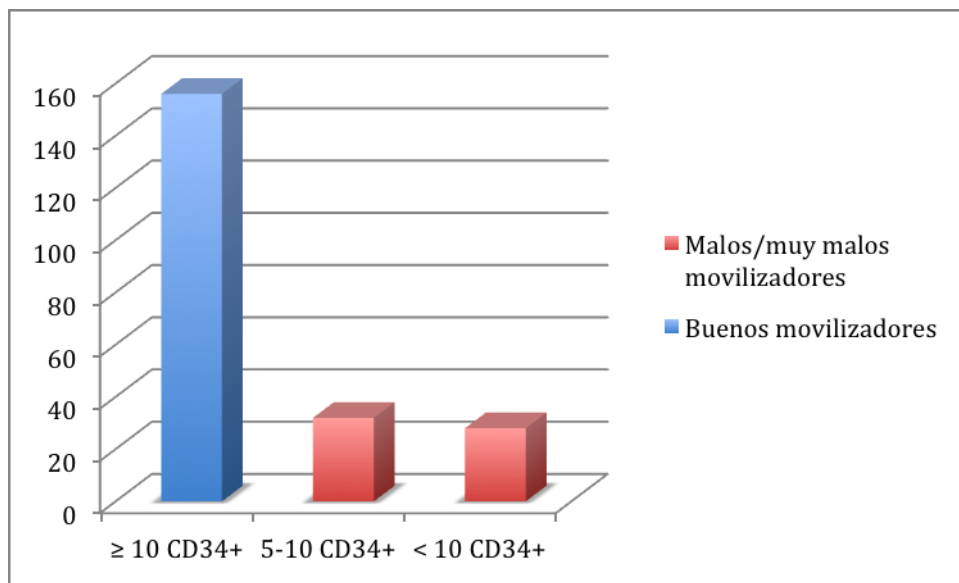


Figura 115: Distribución de pacientes trasplantado (n) en función a la cifra basal de CD34+.

### 3.2. RESULTADOS

#### 3.2.1 BUENOS MOVILIZADORES VERSUS MALOS MOVILIZADORES

En el grupo de MMo se requirió una mediana de 3 aféresis (1-9) para obtener  $\geq 2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup> células/Kg frente a 2 (1-7) requerida en el grupo BM ( $p < 0,001$ ).

La mediana de volumen infundido en MMo fue de 549mL vs. 288mL en el grupo BM ( $p < 0,001$ ). La dosis de CD34<sup>+</sup> infundida fue de  $2,42 \times 10^6$ /Kg en el grupo de MMo vs.  $4,17 \times 10^6$ /Kg en BMo ( $p < 0,001$ ). Sin embargo, al estudiar la cantidad infundida de CFU-GM no alcanzó una diferencia estadística entre estos grupos  $2,12 \times 10^4$ /kg en MMo vs.  $2,8 \times 10^4$ /kg en BMo (tabla 123 y figura 116).

Tabla 123: Datos de volumen, CD34<sup>+</sup> y CFU-GM infundidos en MMo y BM

	Volumen infundido en mL (rango)	CD34+ infundido x10 <sup>6</sup> /kg (rango)	CFU-GM infundido x10 <sup>4</sup> /kg (rango)
MMo	549 (136-2922)	2,42 (1,51-7,7)	2,12 (0,93-37,06)
BM	288 (6,2-2000)	4,17 (1,51-32)	2,8 (0,0-41,7)
p	<0,001	<0,001	0,577

MM=malos movilizadores. BM=buenos movilizadores

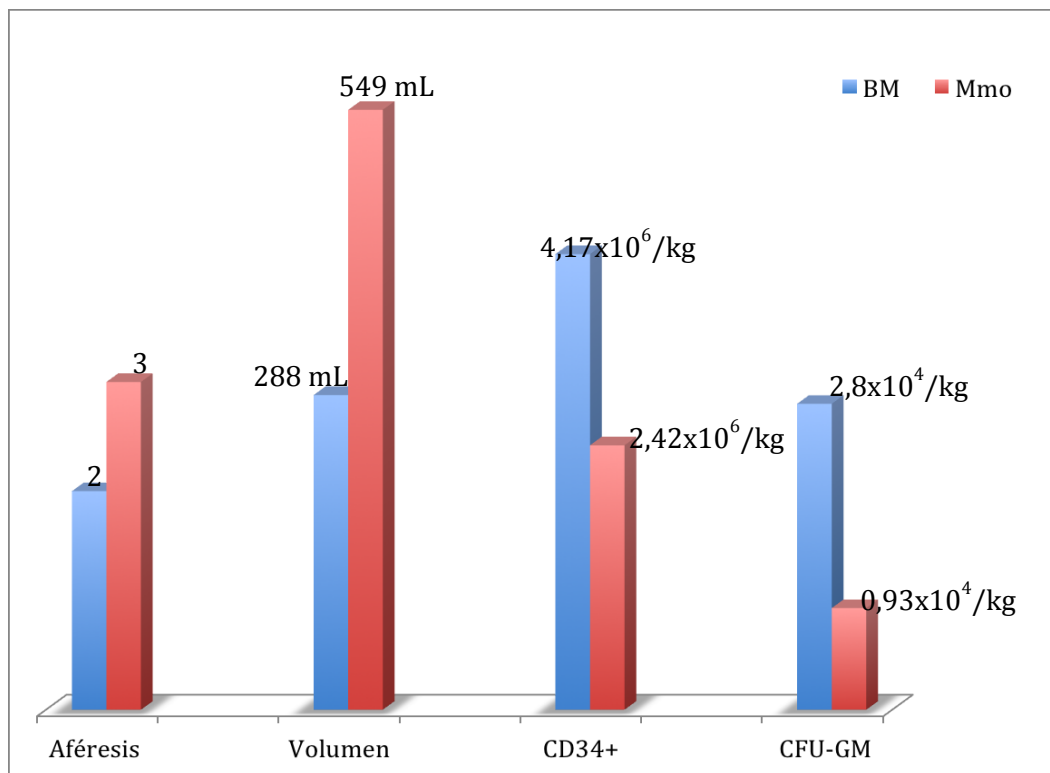


Figura 116: Mediana del número de aféresis; volumen, CD34+ y CFU-GM infundido según buenos o malos movilizadores.

## RESULTADOS

En las tablas 124 y 125 se muestran los datos de prendimiento así como los requerimientos transfusionales y días de estancia hospitalaria tras el trasplante en los BM y MMo

**Tabla 124: Datos analíticos del día de prendimiento de granulocitos y plaquetas en función en los BM y MMo**

		Granulocitos >500x10 <sup>6</sup> /L	plaquetas >20.000x10 <sup>6</sup> /L
MMo	Mediana días (rango)	11 (9-14)	12 (6-37)
BM	Mediana días (rango)	11 (8-25)	12 (6-36)
p		0.716	0.131
MMo=malos movilizados. BM=buenos movilizados			

Observamos que tanto el día de prendimiento de granulocitos (11) como el de plaquetas (12) fue el mismo en ambos grupos sin ser estadísticamente significativo. Los rangos en ambos parámetros también fueron similares, tanto en el grupo de buenos movilizados como en de malos movilizados.

**Tabla 125: Datos de días de fiebre, hospitalización y transfusión de hemoderivados en función a > ó < 10 CD34+x10<sup>6</sup>/kg**

		Días de fiebre	Días de ingreso	Transfusión de hematíes (unidades)	Transfusión Plaquetas (unidades)
MMo	Mediana días (rango)	3 (0-37)	23 (16-37)	2 (0-8)	33 (0-110)
BM	Mediana días (rango)	3 (0-48)	23 (16-108)	2 (0-30)	30 (0-140)
p		0.448	0.154	0.815	0.740
MM=malos movilizados. BM=buenos movilizados					

En cuanto a los días de fiebre tanto la mediana como el rango fue muy similar en los buenos y malos movilizados, y ocurrió lo mismo al analizar los días de ingreso hospitalario que fueron 23 días en ambos grupos.

Al estudiar los requerimientos transfusionales (tanto concentrado de hematíes como unidades de plaquetas) tampoco encontramos diferencias significativas entre ambos grupos.

**3.2.2 BUENOS/MALOS MOVILIZADORES VERSUS MUY MALOS MOVILIZADORES**

En el grupo de MMM se requirió una mediana de 3 aféresis (2-9) al igual que en los MMo para obtener  $\geq 2 \times 10^6$  CD34+ células/Kg frente a 2 (1-7) requerida en el grupo de buenos/malos movilizados (BMM) ( $p < 0,001$ ).

El volumen infundido final en MMM fue de 692mL vs. 326mL en el grupo BMMo ( $p < 0,001$ ). La dosis de CD34+ infundida fue  $2,2 \times 10^6$ /Kg en el grupo de MMMo vs.  $3,16 \times 10^6$ /Kg en BMM ( $p < 0,001$ ). En cambio al estudiar la cantidad infundida de CFU-GMo no alcanzó una diferencia estadística entre estos grupos  $2,12 \times 10^4$ /kg en MMM vs.  $2,8 \times 10^6$ /kg en BMM (tabla 126 y figura 117).

**Tabla 126: Datos de volumen, CD34+ y CFU-GM infundidos en MMM y BMM**

	Volumen infundido en mL (rango)	CD34+ infundido $\times 10^6$ /kg (rango)	CFU-GM infundido $\times 10^4$ /kg (rango)
MMM	692 (136-2019)	2,2 (1,8-5,8)	2,12 (0,93-37,06)
BMM	326 (6,2-2922)	3,16 (1,51-32)	2,8 (0,0-41,7)
<b>p</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,577</b>
MMM=muy malos movilizados. BMM=buenos y malos movilizados			



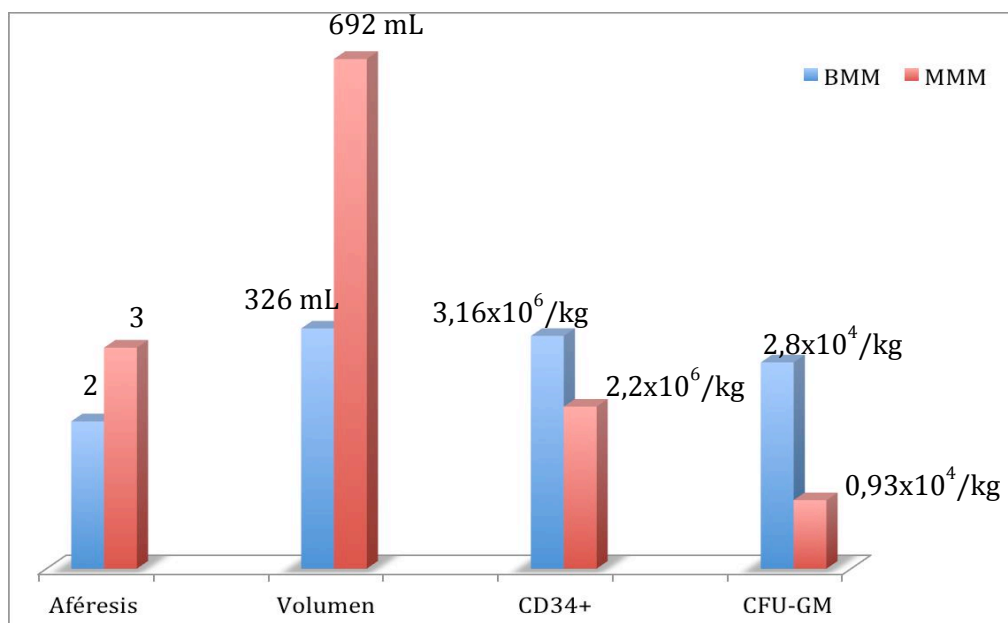


Figura 117: Mediana del número de aféresis; volumen, CD34+ y CFU-GM infundido según buenos o malos movilizadores.

Observamos que tanto el día de prendimiento de granulocitos (12 vs. 13) como el de plaquetas (12) fue muy similar en ambos grupos y curiosamente, con nivel estadísticamente significativo en cuanto a fiebre, menos días en los MMMo. sin ser estadísticamente significativo. Los rangos en ambos parámetros también fueron similares, tanto en el grupo de buenos movilizadores como en de malos movilizadores (tablas 127 y 128).

**Tabla 127: Datos analíticos del día de prendimiento de granulocitos y plaquetas en los MMM comparado con los que tuvieron cifras de CD34<sup>+</sup> basales  $\geq 10/\mu\text{L}$**

		Granulocitos $>500 \times 10^6 / \text{L}$	plaquetas $>20.000 \times 10^6 / \text{L}$
$<5 \text{ CD34}^+ / \mu\text{L}$	Mediana días (rango)	12 (9-14)	12 (8-31)
$\geq 5 \text{ CD34}^+ / \mu\text{L}$	Mediana días (rango)	11 (8-25)	12 (6-37)
p		0.253	0.246

Tanto los días de fiebre como los de ingreso hospitalario fue muy similar en los buenos y malos movilizadores.

Al estudiar los requerimientos transfusionales (tanto concentrado de hematíes como unidades de plaquetas) también fue muy similar.

En ningún caso se encontraron diferencias significativas al comparar ambos grupos.

**Tabla 128: Datos de días de fiebre, hospitalización y transfusión de hemoderivados en función a  $\geq$  ó  $< 10$  CD34+ $\times 10^6$ /kg**

		Días de fiebre	Días de ingreso	Transfusión de hematíes (unidades)	Transfusión Plaquetas (unidades)
$<5$ CD34+/ $\mu$ L	Mediana días (rango)	3 (0-12)	23 (18-37)	2 (0-8)	33 (0-110)
$\geq 5$ CD34+/ $\mu$ L	Mediana días (rango)	3 (0-48)	23 (16-108)	2 (0-30)	30 (0-140)
p		0.036	0.123	0.539	0.581

### 3.2.3 MALOS MOVILIZADORES VERSUS MUY MALOS MOVILIZADORES

Realizamos también un estudio comparativo entre los pacientes con cifras de CD34<sup>+</sup>  $<10/\mu$ L pero  $\geq 5/\mu$ L y los MMM ( $<5$  CD34<sup>+</sup>/ $\mu$ L), sin encontrar diferencias significativas entre los parámetros estudiados.



## DISCUSIÓN



El trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica constituye hoy en día un procedimiento terapéutico ampliamente utilizado, con indicaciones sólidamente establecidas y otras de carácter experimental.

La constatación del beneficio clínico que podía aportar al paciente y de sus potenciales ventajas sobre otras técnicas de trasplante hematopoyético, llevó a la generalización de su uso a principios de la década de los 90. Con todo, existen aún aspectos poco conocidos de ciertos aspectos biológicos, metodológicos y clínicos relevantes que intervienen en su éxito<sup>153</sup>.

Está ampliamente admitido que para asegurar el injerto hematopoyético es necesario infundir un mínimo de  $2 \times 10^6$  células CD34<sup>+</sup> por kilo de peso del receptor. Con el objetivo de garantizar esta colecta y hacer eficiente el procedimiento de la recolección, numerosos centros trasplantadores establecen una cantidad mínima de células progenitoras circulantes previas al inicio de la aféresis, que oscilan entre 10 y 20 células CD34<sup>+</sup>/microL. Sin embargo, alrededor de un 20% de los pacientes candidatos a un trasplante autólogo no movilizan adecuadamente y no alcanzan esas cifras de progenitores pre-aféresis. Son los denominados “malos movilizadores”<sup>93</sup>.

Las células CD34<sup>+</sup> circulantes en sangre periférica se recolectan utilizando máquinas de aféresis de flujo continuo, y se ha descrito que el proceso de aféresis en sí mismo juega un papel movilizador<sup>52-54</sup>. En concreto, ha sido demostrado por varios investigadores que el procesamiento de más de tres veces el volumen de sangre circulante o “aféresis de alto volumen” (AAV), mejora el rendimiento en la recolección de células CD34<sup>+</sup><sup>45,94,95,96-98</sup>.

En la presente memoria, aportamos los datos de un estudio en el que investigamos la eficacia de las AAV y los factores predictivos que influyen en la misma, así como su comparación con las aféresis convencionales. Para ello hemos recogido todos los datos analíticos realizados en las aféresis de altas volemias en nuestro servicio a lo largo de 10 años y estudiamos si las AAV permiten obtener una buena recuperación de CD34<sup>+</sup>, su relación con los factores que clásicamente se consideran predictivos en las aféresis convencionales, e intentamos discriminar algún subgrupo de pacientes en los que este procedimiento pueda ser de especial utilidad.

Nuestra serie incluye todas las aféresis de SP llevadas a cabo en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca durante los primeros años de la puesta en marcha del programa de trasplante de progenitores hematopoyéticos en nuestro centro. Se han incluido pacientes procedentes de la Unidad Clínica de Hematología, de Oncología Médica y la de Oncohematología Infantil, por lo que la muestra presenta una importante heterogeneidad en cuanto a diagnósticos, tipos de acondicionamiento, etc. Este punto, sobre el que no hemos intervenido dado el carácter observacional del estudio, nos permite analizar la influencia de las variables previstas sobre la eficacia las AAV, sin embargo provoca en ocasiones que los grupos de estudio se encuentren poco equilibrados en cuanto a número de procedimientos o sujetos. No obstante, el tamaño de la muestra está en línea con los estudios más amplios publicados sobre este tema<sup>134,153,193,194</sup>, y permite afrontar este problema mediante técnicas multivariantes. Cabe destacar además que hemos estudiado un número de parámetros superior al de cualquiera de las series publicadas.

En lo referente a los diagnósticos de la enfermedad de base, nuestra serie presenta una distribución similar a la publicada por el grupo europeo de trasplante (EBMT) donde la patología más frecuente en el trasplante autólogo es el MM, seguido de linfomas y de leucemias<sup>46</sup>. En nuestra serie aparece un número elevado de pacientes con cáncer de mama que era la indicación más frecuente de los pacientes con tumores sólidos sometidos a dosis altas de QMT y trasplante autólogo de PH hasta 1999. Según datos recientes del EBMT, existe una tendencia al aumento de la indicación de TASPE en el tratamiento de tumores sólidos tanto en población adulta como infantil<sup>46</sup>.

Nuestros datos se basan en el análisis de 530 aféresis realizadas a 216 pacientes, de los cuales, 169 fueron finalmente sometidos a trasplante hematopoyético.

# **1. EFICACIA DE LAS AFÉRESIS DE ALTO VOLUMEN PARA LA OBTENCIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS**

Nuestro objetivo principal fue estudiar la eficacia de las aféresis de alto volumen en relación con los siguientes factores: tipo de enfermedad, número de líneas de tratamiento quimioterápico previas, respuesta de la enfermedad de base en el momento de la aféresis, esquema de movilización utilizado y recuento de células CD34<sup>+</sup> pre-aféresis en sangre periférica.

## **1.1 EFICACIA EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA DE BASE**

En la bibliografía consultada no se ha descrito la patología de base como un factor independiente predictivo de la eficacia de las aféresis, aunque sí con otros factores como el tipo de tratamiento recibido, la situación de la enfermedad previa a la aféresis, o el grado de infiltración de la médula ósea<sup>93</sup>. Por tanto en este estudio hemos querido estudiar la eficacia de las AAV en función a la patología de base como factor independiente.

Conviene señalar que en nuestro estudio, el objetivo en los pacientes con mieloma múltiple y cáncer de mama fue recoger un mínimo de  $4 \times 10^6$ /kg de CD34<sup>+</sup>, en el primer caso para realizar un doble TASPE, mientras que en el segundo para realizar una selección positiva de CD34<sup>+</sup>. En este sentido, resulta congruente la observación de que en nuestra serie, los pacientes con MM y cáncer de mama fueron en los que se recogieron un mayor número de células CD34<sup>+</sup> en comparación con otras patologías como la LLC, EH o la LMA. En cuanto al número de CFU-GM también se obtuvieron los mejores resultados en los pacientes con MM y con diferencia estadísticamente significativa al compararlos con la mayoría de patologías.

Además, estas diferencias pueden ser debidas en parte a que en la mayoría de los pacientes de estos dos grupos se realizó la aféresis tras una sola línea de tratamiento, que con frecuencia incluía agentes alquilantes o radioterapia. Esto



contrasta con muchas publicaciones que documentan una disminución de la eficacia de las aféresis convencionales en función del tipo de tratamiento recibido (no del número de líneas). Así Oliveri et al<sup>93</sup> y Perea et al<sup>195</sup> inciden sobre el tratamiento previo con agentes alquilantes o radioterapia como factor negativo para el éxito del procedimiento de aféresis convencional.

Al estudiar la eficacia de las aféresis y comparar la recuperación celular de PH observamos que en todas las patologías se obtuvo una recuperación de CD34<sup>+</sup> entorno al 100% tanto en la primera bolsa (tras dos volemias) como en la segunda bolsa.

Así podemos concluir que a pesar de la patología de base la eficacia de la AAV es muy buena y se obtiene el 100% o más de todos los PH analizados (figura 118).

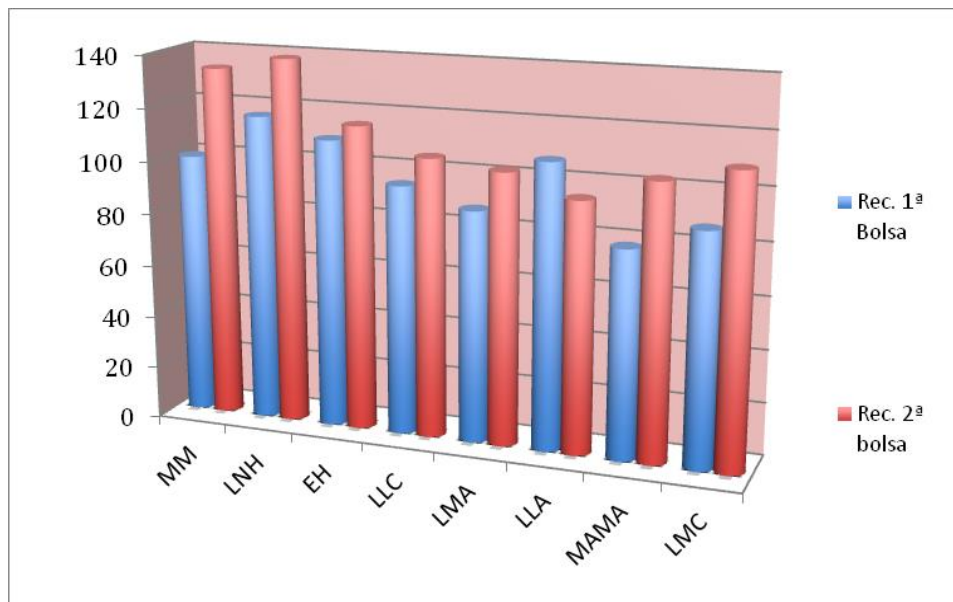


Figura 118: Recuperación de CD34<sup>+</sup> en la primera y segunda bolsa de aféresis en función a la patología de base.

## 1.2 EFICACIA EN FUNCIÓN DE LAS LÍNEAS DE TRATAMIENTO PREVIAS.

Está bien establecido que las líneas de tratamiento recibidas antes de la movilización y sobre todo el tipo de tratamiento (melfalan, fludarabina y radioterapia), son factores clave para el éxito de la recolección de PH<sup>93, 1754, 1758</sup>.

En concordancia con ello, nuestros resultados demuestran que los pacientes que han recibido una sola línea de tratamiento previa para su enfermedad de base, presentan un mayor número de CD34<sup>+</sup> pre-aféresis al compararlos con los que han

recibido dos o más líneas, y esta diferencia es estadísticamente significativa. Sin embargo, la recuperación celular tras la AAV es similar, independientemente de los tratamientos previos recibido, lo que pone de manifiesto la singularidad de las AAV y su eficacia (figura 119).

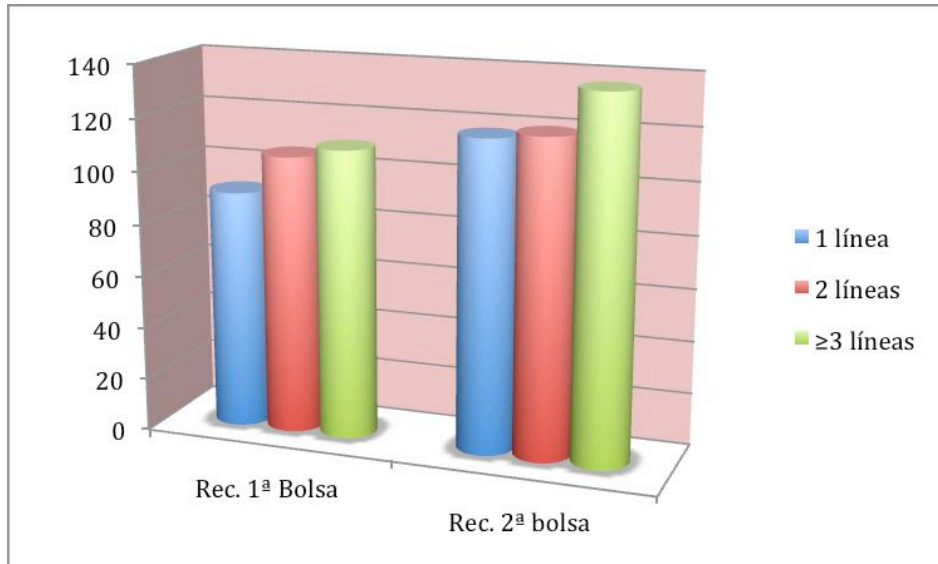


Figura 119: Recuperación de CD34<sup>+</sup> en la primera y segunda bolsa de aféresis en función a las líneas de tratamiento previas.

### 1.3 EFICACIA EN FUNCIÓN DE LA RESPUESTA DE LA ENFERMEDAD DE BASE EN EL MOMENTO DE LA AFÉRESIS

Tanto Oliveri *et al*<sup>93</sup> como Piccirillo *et al*<sup>159</sup> describen el estado de respuesta de la enfermedad de base como factor importante, aunque no decisivo, del éxito del procedimiento de aféresis para la recogida de PH. Sin embargo, en nuestra serie la situación clínica de los pacientes no fue un condicionante a la hora del éxito de la recolección de PH, de modo que tanto los PH basales, como los recolectados en las aféresis, así como la recuperación final fue muy similar en el grupo total de pacientes. La eficacia de la recolección fue muy buena en todos, con una cifra de CD34<sup>+</sup> recuperados del 100% o superior.

Cuando estudiamos el impacto de la respuesta clínica en la eficacia de la aféresis, en los distintos grupos diagnósticos, encontramos que en los pacientes con MM en RC la eficacia de las aféresis fue significativamente inferior a aquellos que se

encontraban en RP y en progresión, a pesar de partir de unas cifras de CD34<sup>+</sup> superiores a 100/mL. No tenemos una explicación clara para este hallazgo. Se podría especular que los pacientes que alcanzan RC también tienen un mayor daño en el micromediambiente medular como consecuencia de la QMT recibida o de una mayor sensibilidad a la misma con componente genético. Con todo, son solamente ocho las aféresis efectuadas en RC en el grupo de MM y tres de ellas al mismo paciente, por lo que la muestra es muy escasa para poder realizar ninguna conclusión con rigor.

En contraste, en los pacientes con LNH encontramos un incremento estadísticamente significativo tanto en las CD34<sup>+</sup> basales, como la cifra absoluta en las bolsas de aféresis y en la recuperación de las CD34<sup>+</sup> en los pacientes que se encontraban en RC frente a los LNH en RP.

La diferencia de nuestros resultados al compararlos con los datos de otras series publicadas podría deberse a que en nuestra serie únicamente un 5% de los pacientes se encontraban en progresión en el momento de la realización de la aféresis. Además, la mayoría de los que estaban en RP correspondían a pacientes con MM (135 de 226 aféresis), en los cuales el objetivo de la recolección de CD34<sup>+</sup> era muy superior ya que se pretendía obtener celularidad para dos TASPEs (figura 120).

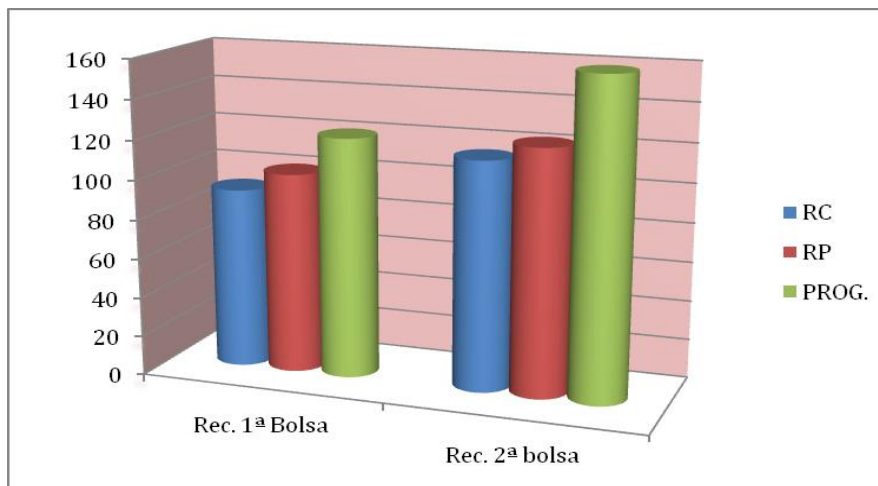


Figura 120: Recuperación de CD34<sup>+</sup> en la primera y segunda bolsa de aféresis en función a la situación clínica en el momento de la aféresis.

#### 1.4 EFICACIA EN FUNCIÓN DEL ESQUEMA DE MOVILIZACIÓN UTILIZADO.

La bibliografía revisada muestra que existe una sinergia de la combinación del G-CSF con la poli-QMT o con la Cy para unos mejores resultados de movilización.  
133,1496

En nuestro estudio, tanto los PH basales como los recolectados en las aféresis son más altos en los pacientes movilizados con QMT-GCSF o Cy-GCSF frente a los movilizados con G-CSF en monoterapia, con diferencias estadísticamente significativas, tanto en el grupo total como en los distintos grupos diagnósticos.

Igualmente la eficacia de las AAV es mayor en los dos primeros grupos, llegando a obtener una diferencia estadísticamente significativa de Cy-GCSF frente a G-CSF solo en la recuperación tanto de la primera como de la segunda bolsa ( $p=0,021$  y  $0,040$  respectivamente), así como la recuperación de QMT-G frente a G-CSF de la segunda bolsa ( $p=0,018$ ).

A pesar de ello, se obtuvo una recuperación cercana o superior al 100% en los tres grupos estudiados, por tanto cabe concluir que las AAV consiguen una eficaz recuperación de  $CD34^+$  independientemente del esquema de movilización empleado, y que por tanto es un buen método para lograr el éxito en pacientes que se movilizan con G-CSF en monoterapia (figura 121).

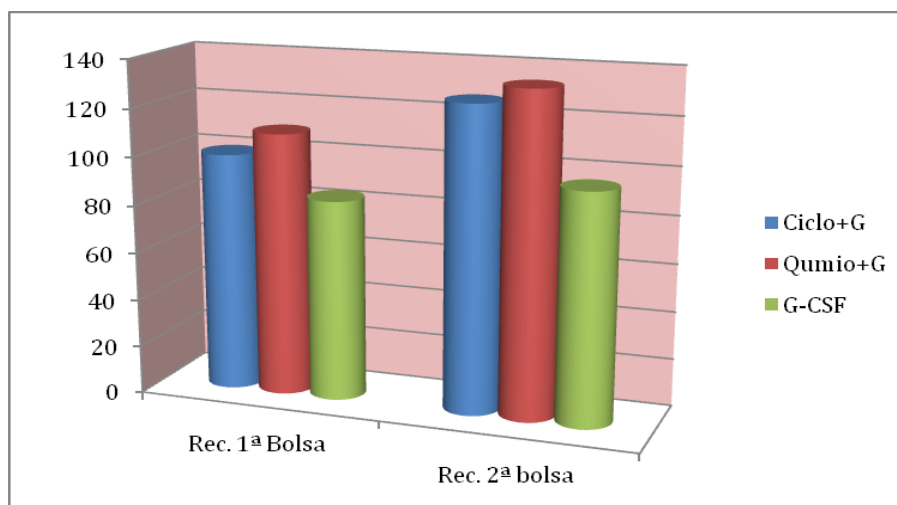


Figura 121: Recuperación de  $CD34^+$  en la primera y segunda bolsa de aféresis en función al esquema de movilización empleado.

### **1.5 EFICACIA EN FUNCIÓN DEL RECUENTO DE CÉLULAS CD34<sup>+</sup> Y DE PLAQUETAS PRE-AFÉRESIS EN SANGRE PERIFÉRICA.**

La cifra basal de CD34<sup>+</sup> pre-aféresis es el indicador mediante el que se separan los “buenos movilizadores” de los “pobres movilizadores”<sup>93,159</sup>. El límite para separar a ambos se ha establecido en la literatura en 10 células CD34<sup>+</sup>/μL<sup>93,156,157</sup>.

En nuestro estudio realizamos dos grupos, por encima y por debajo de la mediana de CD34<sup>+</sup> basales antes de cada aféresis y comparamos ambos grupos. La mediana que se obtuvo como punto de corte fue de 8,8 células CD34<sup>+</sup>/μL.

Los pacientes con CD34<sup>+</sup> por encima de la mediana obtuvieron las cifras más altas de todos los PH, pero la eficacia del procedimiento fue similar en ambos grupos e independientemente de la cifra basal de CD34<sup>+</sup>. Así, nuestros datos indican que la recuperación fue similar incluso mayor en el grupo de CD34<sup>+</sup> basales más bajos (recuperación del 90% en el grupo superior a la mediana versus 120% en el inferior que la mediana p<0.001).

Independientemente de las cifras basales de CD34<sup>+</sup> la recuperación de células con AAV es excelente, con un mínimo del 90% de cada bolsa de aféresis y cifras en torno al 200% en el conjunto de ambas, lo que indica que las altas volemias pueden ser eficaces incluso en los malos movilizadores según los criterios convencionales.

Con los resultados que hemos obtenido en nuestro estudio podemos concluir que aunque la cifra de CD34<sup>+</sup> basal es un índice muy importante a la hora de obtener un mayor número de PH en el proceso de aféresis, las AAV pueden jugar un papel clave sobre todo en ese 20% de pacientes considerados pobres movilizadores en los que no se espera recolectar una cantidad suficiente de PH para realizar el TASPE (Figura 122).

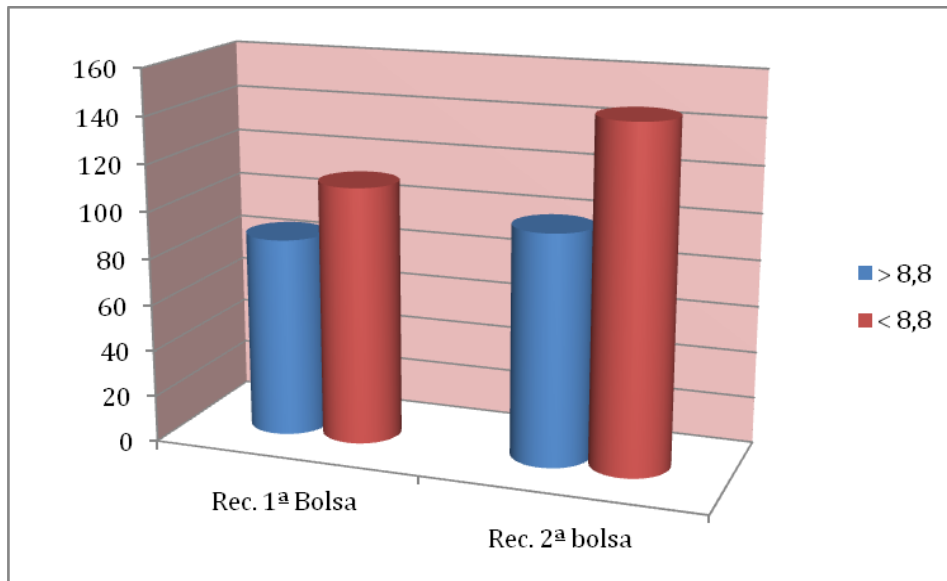


Figura 122: Recuperación de CD34<sup>+</sup> en la primera y segunda bolsa de aféresis en función a la mediana de la cifra basal de CD34<sup>+</sup> circulantes en el paciente (8,8/ $\mu$ L).

Tanto Zubair et al<sup>163</sup> como Papanikolau et al<sup>164</sup> han estudiado el nivel basal de plaquetas como predictor de eficacia en la cosecha de CD34<sup>+</sup> en las aféresis. Zubair et al<sup>183</sup> estudió las aféresis en pacientes con MM y linfomas para trasplantes autólogo así como donantes para alogénico y observaron una relación directa entre la cifra basal de plaquetas y la recogida de CD34<sup>+</sup>. Achacaron dicha diferencia a que los pacientes con cifras basales más bajas y por tanto con menor CD34<sup>+</sup> recogidos, eran aquellos con una situación clínica previa peor, o los que habían recibido más líneas de tratamiento incluyendo agentes alquilantes entre ellos.

Papanokolau et al<sup>164</sup> estudiaron pacientes con MM y llegaron a la misma conclusión, poniéndolo en relación con la interacción del nicho medular de los megacariocitos. Los autores explican esta correlación por la estrecha relación de que una a la célula progenitora con compromiso megacariopoyético a la célula madre totipotente, así como al papel de las citocinas liberadas en la MO tras la QMT o la probabilidad de la QMT de producir mielodisplasia por daño estromal.

Al igual que en los estudios descritos, nosotros también encontramos diferencias estadísticamente significativas en los recuentos basales de CD34<sup>+</sup> entre aquellos pacientes con cifras basales de plaquetas por encima o por debajo de la mediana obtenida ( $99 \times 10^9/L$ ). Así, en el grupo con plaquetas superiores a la mediana,

la media de CD34<sup>+</sup> circulantes basales fue de 141,9x10<sup>6</sup>, mientras que los que tenían plaquetas inferiores a la mediana las CD34<sup>+</sup> fueron 48,9x10<sup>6</sup>, una diferencia estadísticamente significativa. También encontramos diferencias en las CFU-GM y CFU-GMME.

Al estudiar las bolsas de recogida, ocurre algo parecido, a mayor cifra basal de plaquetas, más PH se recogen en ambas bolsas.

Sin embargo al considerar eficiencia no existieron diferencias: la recuperación de las células CD34<sup>+</sup> es similar independientemente de la cifra basal de plaquetas.

Por tanto, aunque existen diferencias en la recogida de CD34<sup>+</sup> en función de la cifra de plaquetas basales la recuperación es similar, por lo que los pacientes con plaquetas bajas podrían beneficiarse de las AVV (figura 123).

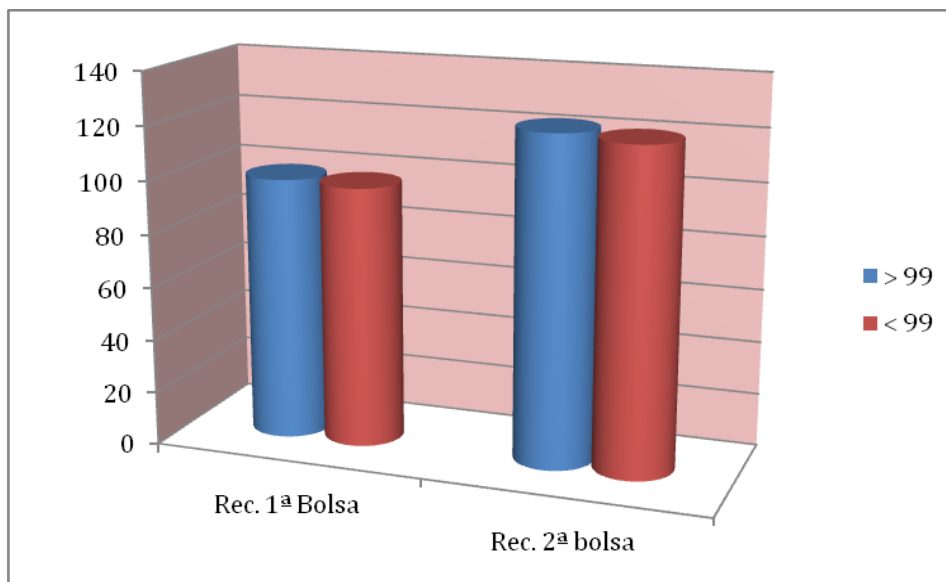


Figura 123: Recuperación de CD34<sup>+</sup> en la primera y segunda bolsa de aféresis en función a la cifra basal de plaquetas previa a la aféresis.

### 1.6 EFICACIA DE LAS AFÉRESIS DE ALTO VOLUMEN PARA LA OBTENCIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN FUNCIÓN AL SEXO Y EDAD

En la literatura consultada no encontramos estudios comparativos de eficacia de las aféresis en función del sexo.

Aunque la media CD34<sup>+</sup> pre-proceso es similar en ambos sexos, e incluso ligeramente mayor en las mujeres, la recuperación es superior en los hombres en

ambas bolsas de aféresis con un significación estadística de  $p=0,022$  y  $0,013$  en la primera y segunda bolsa respectivamente (110 vs. 90% en la primera y 135 vs. 112% en la segunda).

Así, podemos concluir que existe una tendencia a recoger más  $CD34^+$  en los hombres, pero que la eficiencia es similar, por tanto el género no es un factor que pueda predecir la eficacia de las aféresis (figura 124).

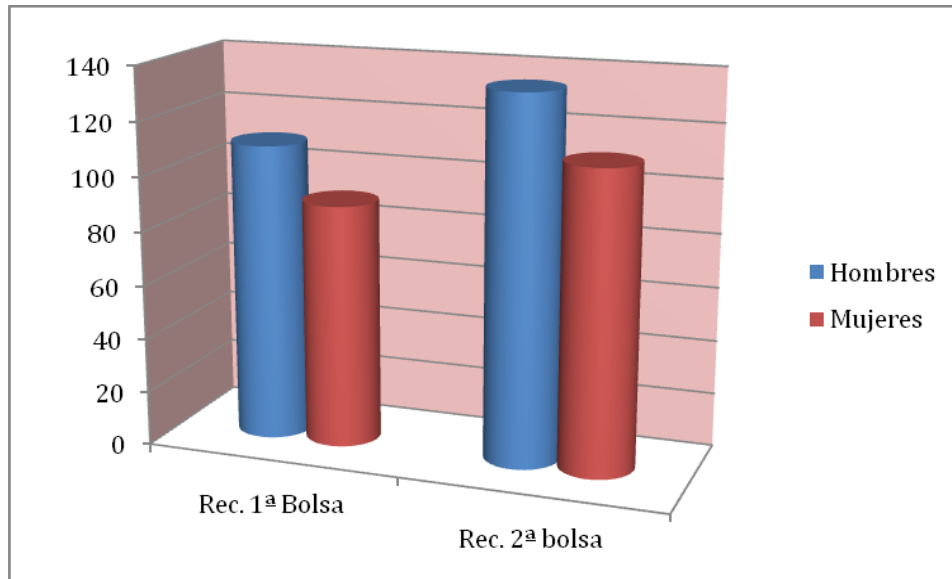


Figura 124: Recuperación de  $CD34^+$  en la primera y segunda bolsa de aféresis en función en función al sexo.

Lysak et al<sup>160</sup> compararon donantes sanos movilizados con G-CSF en función a su edad; dividiéndolos en mayores y menores de 55 años. Primero analizaron las  $CD34^+$  basales y el recuento diario observando que la cinética es superior en los pacientes jóvenes frente a los de mayor edad. Al estudiar las aféresis, igualmente encontraron un incremento significativo del número de  $CD34^+$  en el grupo de jóvenes, al igual que al comparar las  $CD34^+/kg$  en ambos grupos. Estos autores concluyen que los donantes de más edad obtienen menor número de  $CD34^+$ , probablemente por las comorbilidades y la dificultad del proceso de aféresis, pero que a pesar de ello, se obtiene una cifra adecuada de PH y la edad no debe ser condicionante para excluir a un donante.

En nuestro estudio, la mediana de edad de los pacientes fue de 49 años. Al segregar la población en pacientes con edades por encima o por debajo de la mediana



y estudiar la eficacia de las aféresis de altas volemias en ambos grupos , no observamos diferencias significativas en la primera bolsas (tras una aféresis convencional), pero si tras las dos siguientes (AAV), con recuperaciones de 132% vs. 112% en los menores de 49 años frente a mayores de esa edad.

En consecuencia, parece que las AAV en los pacientes más jóvenes son más eficaces que en los de mas edad, aunque ambos grupos presentan una recolección adecuada con cifras de recuperación en torno al 100% en la primera bolsa de aféresis y de más del 110% en la segunda (figura 125).

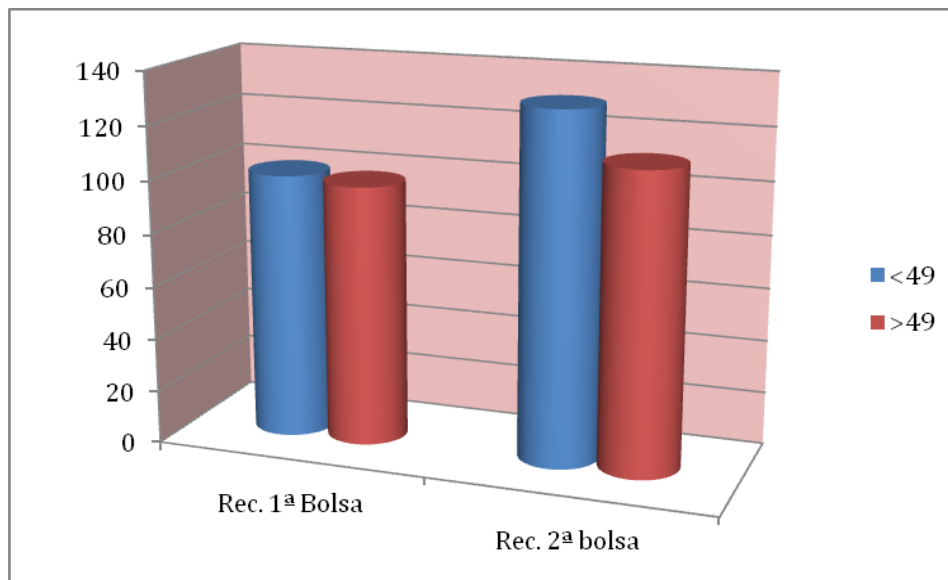


Figura 125: Cifra de CD34<sup>+</sup> basales y de recogida en la aféresis en ambas bolsas de aféresis en función a la mediana de edad.

### **1.7 CORRELACIONES PH BASALES, PRIMERA BOLSA Y SEGUNDA BOLSA.**

Estudiamos si hay correlación entre los PH basales con lo recogido en la primera y segunda bolsa de aféresis, así como si existe correlación de los PH entre sí en la primera bolsa y también en la segunda.

Como cabía esperar, existe una correlación directa entre los PH basales de los pacientes con los PH obtenidos en ambas bolsas de aféresis, y únicamente no encontramos correlación en la cifra de CMN.

Al estudiar la cifra de PH en cada una de las bolsas entre sí, de nuevo hay una relación directa entre cada PH con el resto (a más PH de una estirpe se obtiene más del resto) y lo mismo sucede en la segunda bolsa.

Todo esto puede justificarse por el mismo fundamente del efecto movilizador del procedimiento de aféresis que se expone en el siguiente apartado 2.1.

## **2. OBJETIVOS SECUNDARIOS**

### **2.1 EFECTO MOVILIZADOR DE LAS AFÉRESIS.**

Humpe et al<sup>99</sup> realizó un estudio sobre el efecto movilizador de las AAV. Comparó en pacientes con cáncer de mama y LNH, las aféresis estándar con las AAV y analizó el número de CD34<sup>+</sup> y CFU-GM obtenido en las bolsas de aféresis observando que el número era significativamente superior en las AAV frente a aféresis estándar con una  $p < 0,0001$ . También fue superior la eficacia en las AAV, aunque sin alcanzar significación estadística en el grupo de LNH, pero sí en el Ca. de mama. Estos hallazgos han sido confirmados por otros autores, lo que sugiere que aumentando el número de volemias procesadas se podrían cosechar suficientes PHSP para el trasplante en un mayor número de pacientes<sup>170,174</sup>

Para confirmar esta hipótesis en nuestra serie, comparamos el número de PHSP CD34<sup>+</sup> presentes en la primera bolsa de aféresis (tras dos volemias) y en la segunda (tras otras dos)(figura 126).

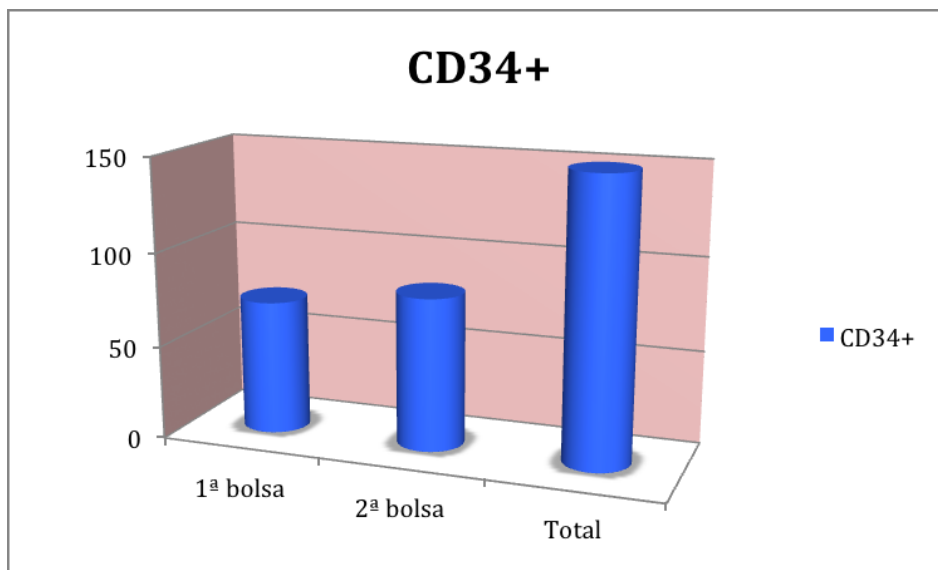


Figura 126: Cifra de CD34<sup>+</sup> basales y de recogida en la aféresis en ambas bolsas de aféresis.

Nuestros datos demuestran un claro efecto movilizador de las aféresis que alcanza la significación estadística. Así cuando realizamos AAV, en la segunda bolsa de

aféresis (tercera y cuarta volemia) se recogen más CD34<sup>+</sup> que en las dos primeras (primera y segunda volemia).

De acuerdo con Humpe et al<sup>99</sup>, consideramos que este efecto causado por la movilización continua podría explicarse por un modelo de cinética celular que consta de tres compartimentos: médula ósea, sangre periférica y el volumen extracorpóreo. Así, la propia aféresis, al extraer las CD34<sup>+</sup> del torrente circulatorio produce una disminución de las mismas en la sangre lo que provocaría un estímulo a la MO para incrementar la proliferación y diferenciación de los diferentes PH y su paso a sangre periférica, con el consiguiente estímulo permanente al producirse de nuevo su disminución con la recogida durante el proceso de aféresis. Con este modelo se podría predecir mejor el rendimiento de CD34<sup>+</sup> basadas en las CD34<sup>+</sup> basales, volumen de sangre, tasa de flujo y duración de la aféresis.

## **2.2 CINÉTICA DEL INJERTO EN LOS BUENOS Y MALOS MOVILIZADORES.**

El objetivo de las aféresis es obtener un mínimo de CD34<sup>+</sup> para que la cinética del injerto sea la adecuada.

Malik et al<sup>197</sup> estudiaron los días de aféresis requeridos, las células CD34<sup>+</sup> obtenidas, y durante el TASPE la cinética del injerto de los granulocitos ( $> 0,5 \times 10^9/L$ ) y plaquetas ( $> 20.0 \times 10^9/L$ ), y los días de ingreso, en función del número de movilizaciones y de aféresis. Observó que los días de aféresis requeridos para la obtención de un número suficiente de CD34<sup>+</sup> influye tanto en el proceso del trasplante (días para alcanzar un injerto estable y de ingreso), como en la supervivencia de los pacientes. La conclusión fue que los pacientes que movilizan peor son pacientes de mayor edad y que precisaron más líneas de tratamiento previo.

Nosotros hemos estudiado la cinética del injerto comparando a los buenos y malos movilizados. Separamos en dos grupos a nuestros pacientes, buenos movilizados (BM) ( $> 10 \text{ CD34}^+/\mu\text{L}$ ) y malos movilizados (MMo) ( $< 10 \text{ CD34}^+/\mu\text{L}$ ) y dentro de estos últimos, los muy malos movilizados (MMM) ( $< 5 \text{ CD34}^+/\mu\text{L}$ ).

Al comparar los BM con los MMo, y los BMM con los MMM, no encontramos diferencias significativas ni en la cinética del injerto de los granulocitos ( $> 500 \times 10^3/L$ ) ni

en la de plaquetas ( $>20.000 \times 10^3/L$ ). Tampoco encontramos diferencias en los días de fiebre, días de ingreso hospitalario ni en los requerimientos transfusiones. En contraste, si se encontraron diferencias en las cifras de  $CD34^+$  y volumen infundidos.

Por tanto, a diferencia de Malik et al<sup>197</sup>, podemos incisar que lo importante en el procedimiento de aféresis es conseguir  $\geq 2 \times 10^6 CD34^+$  células/peso del receptor, independientemente del número de aféresis requeridas para ello. La diferencia entre ambos estudios podría explicarse porque el grupo que precisa más días de aféresis, en el estudio de Malik, son pacientes con enfermedades más agresivas y en una situación clínica peor que en el grupo que requiere menor número de aféresis (figura 127).

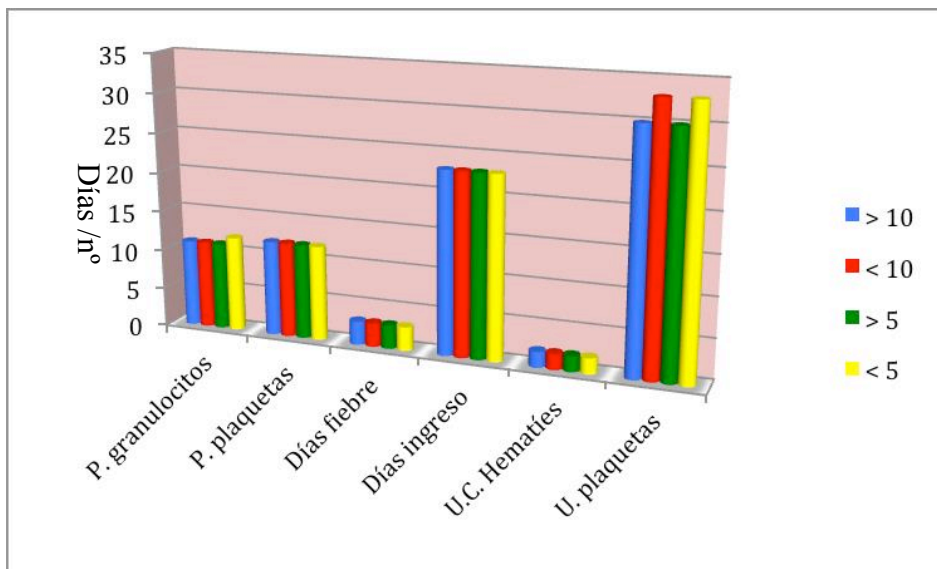


Figura 129: Prendimiento de granulocitos, plaquetas, días de fiebre y de ingreso y transfusión de concentrados de hematíes y unidades de plaquetas en función a la cifra basal de  $CD34^+$ .

### 2.3 ALGORITMO PARA DISCRIMINAR PACIENTES A PROCESAR AFÉRESIS DE ALTOS VOLÚMENES DE LOS QUE NO LO REQUIEREN

En base a nuestros resultados podemos crear un modelo en el que el paciente ideal para una aféresis eficaz sería un varón de menos de 60 años, diagnosticado de MM que ha recibido una sola línea de tratamiento, con una cifra basal de  $CD34^+ > 10 CD34^+/\mu L$  y presenta una cifra de plaquetas  $> 100.000 \times 10^3/L$ . Este paciente se

movilizaría con Cy + G-CSF y se realizaría una aféresis con volumen convencional, sin necesidad de AAV para el éxito del procedimiento. Por el contrario un paciente por encima de los 60 años, con una LMA que ha precisado dos o más líneas de tratamiento, y que su cifra basal de CD34<sup>+</sup> y plaquetas es <10 CD34<sup>+</sup>/μL y <100.000x10<sup>3</sup>/L respectivamente, si además se ha movilizado únicamente con G-CSF podría beneficiarse de AAV para poder llegar a obtener ≥ 2x10<sup>6</sup>CD34<sup>+</sup> células/peso (tabla 129).

**Tabla 129: esquema para diferenciar los pacientes que requieren AAV a los que no lo precisan.**

	MEJOR MOVILIZADOR	PEOR MOVILIZADOR
PATOLOGÍA DE BASE	MM, CA. MAMA, LLA, LMC	RESTO
LÍNEAS DE TRATAMIENTO	UNA	DOS O MÁS
ESQUEMA MOVILIZACIÓN	CICLOFOSFAMIDA + G-CSF QUIMIOTERAPIA + G-CSF	G-CSF O NADA
CIFRA DE CD34+ BASAL	> 8,8 CD34 <sup>+</sup> /μL	< 8,8 CD34 <sup>+</sup> /μL
CIFRA BASAL DE PLAQUETAS	> 100.000x10 <sup>3</sup> /L	< 100.000x10 <sup>3</sup> /L
EDAD	< 49 AÑOS	> 49 AÑOS
SEXO	HOMBRE	MUJER



## CONCLUSIONES





## CONCLUSIONES

1. Las aféresis con procesamiento de cuatro volemias (aféresis de alto volumen) mantienen son eficaces para recuperar al menos el 100% de los progenitores circulantes pre-proceso incluso en los pacientes malos movilizadores.
2. La eficacia de las aféresis de alto volumen no se ve afectada por el tipo de enfermedad de base, el número de líneas de tratamiento recibidas, la respuesta a la enfermedad de base en el momento de la aféresis, el esquema de movilización utilizado ni la cifra basal de CD34<sup>+</sup>.
3. El proceso de aféresis tiene efecto movilizador, ya en las aféresis de alto volumen el número de células CD34<sup>+</sup> obtenidas tras el procesamiento de la 3ª y 4ª volemia es superior al obtenido tras las dos primeras volemias.
4. La realización de AAV no influye en la cinética del injerto y consigue rescatar para trasplante autólogo a pacientes malos movilizadores.
5. Existe una buena correlación entre el número de células CD34<sup>+</sup> circulantes pre-aféresis y las CD34<sup>+</sup> recolectadas así como con las unidades formadoras de colonias, excepto con las CFU-GM.
6. Los subgrupo de pacientes que podrían beneficiarse más de las AAV serían las pacientes de sexo femenino, los mayores de 49 años diagnosticados de LNH, EH, LMA y LLC tratadas con dos o más líneas de tratamiento que presenten < de 100x10<sup>9</sup>/L plaquetas y 8,8 CD34<sup>+</sup>/μL pre-aféresis.



## REFERENCIAS



## REFERENCIAS

1. Santos GW. History of bone marrow transplantation. *Clin Haem* 1983;12:611-39.
2. Forkner CE. Leukemia and allied disorders. New York: Macmillan; 1938.
3. Osgood EE, Riddle MC, Mathews TJ. Aplastic anemia treated with daily transfusions and intravenous marrow; case report. *Ann Intern Med* 1939;13:357-67.
4. Jacobson LO, Marks EK. Role of the spleen in radiation injury. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;70:7440.
5. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, Sheldon E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst* 1951;12:197-201.
6. Lorenz E, Congdon CC. Modification of lethal irradiation injury in mice by injection of homologous and heterologous bone marrow. *J Natl Cancer Inst* 1954;14:955-61.
7. Barnes DWH, Loutit JF. What is the recovery factor in spleen? *Nucleonics* 1954;12: 68-71.
8. Miescher PP, Fauconnet M. Mise en évidence de différents groupes leucocytaires chez l'homme. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift* 1954;84:597-9.
9. Dausset J. Iso-leuco-anticorps. *Acta Haematologica* 1958;20:156-66.
10. Dausset J, Rapaport FT, Legrand L, Colombani J, Barge A, Feingold N. Studies on transplantation antigens (HL-A) by means of skin grafts from 90 children onto their fathers. *Nouv Rev Française d'Hématol* 1969;9:215-9.
11. Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, et al. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl Med* 1957; 257: 491-6.
12. Thomas ED. The evolution of scientific foundation of marrow transplantation based on human studies. *Bone marrow transplantation*. Boston: Blackwell Scientific Publication; 1994. p.12-5.
13. Thomas ED, Storb R, Clift RA. Bone-marrow transplantation. *N Engl J Med* 1975;292:832-43, 895.
14. Mathé G, Jammet H, Pendic B, et al. Transfusion s et greffes de moelle os-seuse homologue chez des humains irradiés a hautes dose accidentellement. *Rev Fr Etudes Clin Biol* 1959; 4: 226-38.
15. Payne, R. and Rolfs, M.R.: Fetomaternal leucocyte incompatibility. *J. Clin. Invest.* 37: 1756, 1958.
16. Thomas ED, Buckner CD, Storb R, et al. Aplastic anemia treated by marrow transplantation. *Lancet* 1972; 1: 284-9.
17. Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, et al. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 1968; ii: 1366-9.
18. Thomas ED, Bryant JI, Buckner CD, et al. Allogenic marrow grafting using HL-A matched donor-recipient sibling pairs. *Trans Assoc Am Physicians* 1971; 84: 248-61.
19. Ferrebee JW, Billen D, Urso IM et ál. Preservation of radiation recovery factor in frozen marrow. *Blood* 1957; 12: 1096.
20. Lovelock J, Bishop W. Prevention of freezing damage to living cells by DMSO. *Nature* 1959; 183: 1394.
21. Kurnick N, Montano A, Gerdes J. Preliminary observations on the treatment of posirradiation hematopoietic depression in man by the infusion of autogenous bone marrow. *Ann Intern Med* 1958; 49: 973.
22. McGovern JJ, Russel PS, AtkinsL, Webster EW. Treatment of terminal leukemic

- relapse by total-body irradiation and intravenous infusion of stored autologous bone marrow obtained during remission. *N Eng J Med* 1959;260:675-83.
23. Appelbaum FR, Herzig GP, Ziegler JL, Graw RG, Levine AS, Deisseroth AB. Successful engraftment of cryopreserved autologous bone marrow in patients with malignant lymphoma. *Blood* 1978;52:85-95.
  24. Körbling M, Burke P, Braine H, Elfenbein G, Santos G, Kaizer H. Successful engraftment of blood-derived normal hemopoietic stem cells in chronic myelogenous leukemia. *Exp Hematol* 1981;9:684-690
  25. Tilly H, Bastit D, Lucet JC, Esperou H, Monconduit M, Piguet H. Haemopoietic reconstitution after autologous peripheral blood stem cell transplantation in acute leukaemia. *Lancet* 1986; 2(8499): 154-5.
  26. Goldman JM, Catovsky D, Galton DA. Reversal of blast-cell crisis in CGL by transfusion of stored autologous buffy-coat cells. *Lancet* 1978 Feb 25; 1(8061): 437-8.
  27. Goldman JM, Catovsky D, Goolden AW, Johnson SA, Galton DA. Buffy coat autografts for patients with chronic granulocytic leukaemia in transformation. *Blut* 1981 Mar; 42(3): 149-55.
  28. Kessinger A, Armitage JO, Landmark JD, Weisenburger DD. Reconstitution of human hematopoietic function with autologous cryopreserved circulating stem cells. *Exp Hematol.* 1986 Mar;14(3):192-6.
  29. Castaigne S, Calvo F, Douay L, Thomas F, Benbunan M, Gerota J, Degos L. Successful haematopoietic reconstitution using autologous peripheral blood mononucleated cells in a patient with acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1986 May; 63(1): 209-11.
  30. Bell AJ, Figs A, Oscier DG, Hamblin TJ. Peripheral blood stem cell autografting. *Lancet* 1986; 1(8488): 1027.
  31. Reiffers J, Bernard P, David B, Vezon G, Sarrat A, Marit G, Moulinier J, Broustet A. Successful autologous transplantation with peripheral blood hemopoietic cells in a patient with acute leukemia. *Exp Hematol* 1986; 14: 312-5.
  32. Kessinger A. Utilization of peripheral blood stem cells in autotransplantation. *Hematol Oncol Clin North Am* 1993; 7(3): 535-45.
  33. Goodman JW, Hodgson GS. Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood* 1962; 19: 702-14.
  34. Richman CM, Weiner RS, Yankee RA. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood* 1976; 47(6): 1031-9.
  35. To LB, Haylock DN, Kimber RJ, Juttner CA. High levels of circulating haemopoietic stem cells in very early remission from acute non- lymphoblastic leukaemia and their collection and cryopreservation. *Br J Haematol* 1984; 58(3): 399-410.
  36. Siena S, Bregni M, Brando B et ál. Circulation of CD34+ hematopoietic stem cells in the peripheral blood of high-dose cyclophosphamide-treated patients: enhancement by intravenous recombinant human granulocyte- macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1989; 74: 1905-14.
  37. Sheridan WP, Begley CG, Juttner CA et ál. Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilized by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet* 1992; 339: 640-4.
  38. Maximow A. Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im posfetalen Leben der Säugetiere. *Folia Haematol (Lpz)* 1909;8. (Citado en: Körbling M, Flidner TM. History

- of blood stem cell transplants. En: Gale RP, Juttner C, Henon P, editores.
39. Korbling M, Flidner TM. History of Blood Stem Cell Transplants. En Gale RP, Juttner C, Henon P. Editores. Blood Stem Cell Transplants. Cambridge: Cambridge University Press; 1994. p. 9-19.
  40. Cavins JA, Scheer SC, Thomas ED, Ferrebee JW. The recovery of lethally irradiated dogs given infusions of autologous leukocytes preserved at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Blood 1964; 23: 38-43.
  41. S, Bregni M, Brando B et ál. Flow cytometry for clinical estimation of circulating hematopoietic progenitors for autologous transplantation in cancer patients. Blood 1991; 77: 400-9.
  42. Martín M. High-dose chemotherapy for breast cancer: clinical advantages of autologous peripheral blood progenitor cells compared with autologous bone marrow transplantation. Ann Oncol 1995; 6 (Suppl 4): S33-S37.
  43. Gratwohl A, Passweg J, Baldomero H, Hermans J. Blood and marrow transplantation activity in Europe 1996. European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Bone Marrow Transplant 1998; 22(3): 227-40.
  44. Organización Nacional de Trasplantes. Estadísticas sobre actividad en trasplante de progenitores hematopoyéticos en España. <http://www.msc.es/ont/esp/estadisticas/medula/tph.pdf>.
  45. Carella AM, Champlin R, Slavin S, McSweeney P, Storb R. Mini-allografts: ongoing trials in humans. Bone Marrow Transplant 2000; 25:345-50.
  46. JR. Passweg, H. Baldomero et al. EBMT 2014.
  47. Appelbaum FR, Forman SJ, Negrin RS, Blume KG. Thomas' Hematopoietic cell transplantation. ed 4a, Oxford, Wiley-Blackwell, 2010.
  48. Appelbaum FR. Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy. Nature. 2001 May 17;411(6835):385-9.
  49. Carreras E: Fundamento, tipos y principales indicaciones del TPH; en Carreras E, 67. Rovira M, Martínez C, (eds): Manual de Trasplante hematopoyético. Antares, 2010, pp 3-8.
  50. Copelan EA: Hematopoietic stem-cell transplantation. N Engl J Med 2006;354:1813-1826.
  51. Burnett AK, Goldstone AH, Stevens RM, Hann IM, Rees JK, Gray RG, Wheatley K: Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. UK Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. Lancet 1998;351:700-708.
  52. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR, Lazarus HM, Rowe JM, Paietta E, Willman C, Hurd DD, Bennett JM, Blume KG, Head DR, Wiernik PH: Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. N Engl J Med 1998;339:1649-1656.
  53. Harousseau JL, Cahn JY, Pignon B, Witz F, Milpied N, Delain M, Lioure B, Lamy T, Desablens B, Guilhot F, Caillot D, Abgrall JF, Francois S, Briere J, Guyotat D, Casassus P, Audhuy B, Tellier Z, Hurteloup P, Herve P: Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. The Groupe Ouest Est Leucemies Aigues Myeloblastiques (GOELAM). Blood 1997;90:2978-2986.



54. Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R, de WT, Labar B, Resegotti L, Leoni F, Damasio E, Visani G, Papa G, .: Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. *N Engl J Med* 1995;332:217-223.
55. Gökbüget N, Hoelzer D: HSCT for acute lymphoblastic leukaemia in adults; en Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T, (eds): *Hematopoietic Stem Cell Transplantation. ESH-EBMT Handbook*, 2008, pp 372-379.
56. Haioun C, Lepage E, Gisselbrecht C, Salles G, Coiffier B, Brice P, Bosly A, Morel P, Nouvel C, Tilly H, Lederlin P, Sebban C, Briere J, Gaulard P, Reyes F: Survival benefit of high- dose therapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final analysis of the prospective LNH87-2 protocol--a groupe d'Etude des lymphomes de l'Adulte study. *J Clin Oncol* 2000;18:3025-3030.
57. Johnston A, Coiffier B: HSCT for high-grade non-Hodgkin's lymphoma in adults; en Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T, (eds): *Hematopoietic Stem Cell Transplantation. ESH-EBMT Handbook*, 2008, pp 434-441.
58. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, Van Der Lelie H, Bron D, Sonneveld P, Gisselbrecht C, Cahn JY, Harousseau JL: Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1995;333:1540-1545.
59. Gribben JG: HSCT for low-grade non-Hodgkin's lymphoma in adults; en Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T, (eds): *Hematopoietic Stem Cell Transplantation. ESH-EBMT Handbook*, 2008, pp 442-453.
60. Sureda A: HSCT for Hodgkin's lymphoma in adults; en Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T, (eds): *Hematopoietic Stem Cell Transplantation. ESH-EBMT Handbook*, 2008, pp 454-463.
61. Femand JP, Ravaud P, Chevret S, Divine M, Leblond V, Belanger C, Macro M, Pertuiset E, Dreyfus F, Mariette X, Boccacio C, Brouet JC: High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation in multiple myeloma: up-front or rescue treatment? Results of a multicenter sequential randomized clinical trial. *Blood* 1998;92:3131-3136.
62. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JF, Casassus P, Maisonneuve H, Facon T, Ifrah N, Payen C, Bataille R: A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome. *N Engl J Med* 1996;335:91-97.
63. Saccardi R, Farge D: HSCT for autoinmune diseases in adults; en Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T, (eds): *Hematopoietic Stem Cell Transplantation. ESH- EBMT Handbook*, 2008, pp 472-479.
64. Goldman JM, Schmitz N, Niethammer D, Gratwohl A: Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe in 1998. Accreditation Sub-Committee of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;21:1-7.
65. Gratwohl A, Hermans J: Indications and donor source of hematopoietic stem cell transplants in Europe 1993: report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Clin Transplant* 1995;9:355-363.
66. Gratwohl A, Hermans J, Baldomero H: Hematopoietic precursor cell transplants in

- Europe: activity in 1994. Report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 1996;17:137-148.
67. Dupont B: Immunology of hematopoietic stem cell transplantation: a brief review of its history. *Immunol Rev* 1997;157:5-12.
  68. Schmitz N, Linch DC, Dreger P, Goldstone AH, Boogaerts MA, Ferrant A et al. Randomised trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients. *lancet* 1996; 347: 353-357.
  69. Hartmann O, Le Corroller AG, Blaise D, Michon J, Philip I, Norol F et al. Peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation for solid tumors and lymphomas: hematopoietic recovery and costs. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1997; 126: 600-607.
  70. Carreras E, Rozman C: Trasplante de progenitores hematopoyéticos; en Sans-Sabrafen J, Bess C, Vives JL, (eds): *Hematología Clínica*. Madrid, Elsevier España, S.A., 2006, pp 789-807.
  71. Moraleda JM, Iniesta F, Sánchez-Salinas A: Trasplante de progenitores hematopoyéticos; en Moraleda JM, (ed): *Pregrado de Hematología*. Luzán 5, S.A., 2011, pp 481-516.
  72. Majado MJ, Garcia de Insausti C, Moraleda JM. Hematopoyesis. *Hematías: estructura y función*. Moraleda JM, (ed): *Pregrado de Hematología*. Luzán 5, S.A., 2011, pp 15-33.
  73. Florensa L, Woessner S. Hematopoyesis. *Morfología de los elementos formes de la sangre y órganos hematopoyéticos*. Sans-Sabrafen J, Besses C, Vives JL, (eds): *Hematología Clínica*. Madrid, Elsevier España, S.A., 2006, pp 1-32.
  74. Majado MJ y col. Hematopoyesis. *Hematías, estructura y función*. Moraleda JM: *Pregrado de Hematología*, 2011, p 16.
  75. Bondurant MC, Koury MJ. Origin and development of blood cells. In: Lee RG, et al. eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10th ed. 1999:2320-41
  76. Simmons PJ, Zannettino A, Gronthos S, Leavesley D. Potential adhesion mechanisms for localisation of haemopoietic progenitors to bone marrow stroma. *Leuk Lymphoma* 1994;12:353-363.
  77. Nervi B, Link DC, DiPerso JF. Cytokines and hematopoietic stem cell mobilization. *J Cell Biochem* 2006; 99: 690-705.
  78. Bensinger W, DiPersio JF, McCarty JM. Improving stem cell mobilization strategies: future directions. *Bone Marrow Transplantation* 2009, 43, 181-195.
  79. Ehninger A, Trumpp A. The bone marrow stem cell niche grows up: mesenchymal stem cells and macrophages move in. *J. Exp. Med* 2011, Vol.208 No 3 421-428.
  80. Heidt T, Sager H et al. Chronic variable stress activates hematopoietic stem cells. *Nat Med*. 2014 July;20(7):754-758.
  81. Prof. Tsvee Lapidot's Lab. Functional Pre-Clinical Models for Normal and Leukemic Human Stem Cells: Dynamic molecular and cellular communication between stem cells and the bone marrow microenvironment. Departmente of Immunology. Weizmann Institute of Science.
  82. Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L, Ponomaryov T, Taichman RS, Arenzana-Seisdedos F, Fujii N, Sandbank J, Zipori D, Lapidot T. G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol* 2002; 3 (7): 687-694.

83. Siena S, Bregni M, Gianni AM. Mobilization of peripheral blood progenitor cells for autografting: chemotherapy and G-CSF or GM-CSF. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 1999; 12 (1-2): 27-39.
84. Körbling M. Collection of allogeneic peripheral blood stem cells. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 1999; 12 (1-2): 41-55.
85. Watts MJ, Ings SJ, Leverett D, MacMillan A, Devereux S, Goldstone AH, Linch DC. ESHAP and G-CSF is a superior blood stem cell mobilizing regimen compared to cyclophosphamide 1.5 g m<sup>-2</sup> and G-CSF for pre-treated lymphoma patients: a matched pairs analysis of 78 patients. *British Journal of Cancer* 2000; 82 (2): 278-282.
86. Hicks ML, Lonial S, Langston A, Flowers C, Roback JD, Smith KJ, Mossavi Sai S, Teagarden D, Hamilton ES, Waller EK, Kaufman J. Optimizing the timing of chemotherapy for mobilizing autologous blood hematopoietic progenitor cells. *Transfusion* 2007; 47 (4): 629-635.
87. Nosari A, Cairoli R, Ciapanna D, Gargantini L, Intropido L, Baraté C, Scarpati B, Santoleri L, Nador G, Pezzetti L, Morra E. Efficacy of single dose pegfilgrastim in enhancing the mobilization of CD34+ peripheral blood stem cells in aggressive lymphoma patients treated with cisplatin-aracytin-containing regimens. *Bone Marrow Transplant* 2006; 38 (6): 413-416.
88. Hill QA, Buxton D, Pearce R, Gesinde MO, Smith GM, Cook G. An analysis of the optimal timing of peripheral blood stem cell harvesting following priming with cyclophosphamide and G-CSF. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40 (10): 925-930.
89. Stiff PJ. Management strategies for the hard-to-mobilize patient. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23 (2): S29-S33.
90. Pecora AL. Impact of stem cell dose on hematopoietic recovery in autologous blood cell recipients. *Bone Marrow Transplantation* 1999; 23 (Suppl 2): S7-S12.
91. Opie TM, Shields LE, Andrews RG. Cell-surface antigen expression in early and term gestation fetal hematopoietic progenitor cells. *Stem Cells* 1998; 16: 343-348.
92. Dao MA, Arevalo J, Nolta JA. Reversibility of CD34 expression on human hematopoietic stem cell that retain the capacity for secondary reconstitution. *Blood* 2003; 101: 112-118.
93. Oliveri M, Marchetti M, Lemoni R, Tarella C, Iacone A, Lanza F, Rambaldi A, Bosi A. Proposal definition of "poor mobilizer" in lymphoma and multiple myeloma: an analytic hierarchy process by ad hoc working Grupo italiano Trapianto di Midollo Osseo. *Bone Marrow Transplantation* 2012 Mar;47(3): 342-51.
94. Fontana S, Groebli R, Leibundgut K, Pabst T, Zwicky C, Taleghani BM. Progenitor cell recruitment during individualized high-flow, very-large-volume apheresis for autologous transplantation improves collection efficiency. *Transfusion* 2006; 46 (8): 1408-1416.
95. Moller AK, Dickmeiss E, Geisler CH, Christensen LD. Recruitment of CD34+ cells during large-volume leukapheresis. *J Hematother Stem Cell Res* 2001; 10 (6): 837-853.
96. Anguita-Compagnon AT, Dibarrat MT, Palma J, Paredes L, Mosso C, Montalva R, Salas L, Araos D, Delgado I, Majlis A. Mobilization and Collection of peripheral blood stem cells: Guidelines for Blood volume to process, based on cd-34 positiva blood cell count in adult and children. *Transplantation Proceeding*, 2010, 42, 339-344.
97. Ozcan GH, Micallef IN, Dispenzieri A, Kumar S, Lacy MQ, Dingli D, Hayman SR, Buadi FK, Wolf RC, Gastineau DA, Hogan WJ, Gertz MA. Hemtopoietic recovery kinetics

- predicts for poor CD34+ cell mobilization after cyclophosphamide chemotherapy in multiple myeloma. *American Journal of Hematology* 2012. 87: 1-4.
98. Roncon S, Barbosa IL, Campilho F, Lopes SM, Campos A, Carvalhais A. Mobilization and collection of peripheral blood stem cell in multiple Myeloma patients older than 65 years. *Transplantation Proceedings* 2011. 43, 244-246.
  99. Humpe A, Riggert J, Munzel U, Kohler M. A prospective, randomized, sequential crossover trial of large-volume versus normal-volume leukapheresis procedures: effects on serum electrolytes, platelet counts, and other coagulation measures. En Kretschmer V, Stangel W, Eckstein R (eds): "Transfusionmedizin 1992/93." Vol 31. Freiburg: Karger. 1993, pp 111-117.
  100. Metcalf D. The molecular biology and functions of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Blood* 1986; 67:257-267.
  101. Welte K, Platzer E, Lu L, Gabrilove JL, Levi E, Mertelsmann R et al. Purification and biochemical characterization of human pluripotent hematopoietic colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 1526-1530.
  102. Gazitt Y. Comparison between granulocyte colony-stimulating factor and ggranulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the mobilization of peripheral blood stem cell. *Curr Opin Hematol* 2002; 9: 190-198.
  103. Gazitt Y, Shaughnessy P, Liu Q. Differential mobilization of CD34+ cells and lymphoma cells in non-Hodgkin's lymphoma patients mobilized with different growth factors. *J Jematother Stem Cell Res* 2001; 10: 167-176.
  104. Arora M, Burns LJ, Barker JN, Miller JS, Defor TE, Olujuhungebe AB et al. Randomized comparison of granocyte colony-stimulating factor versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus intensive chemotherapy for peripheral blood stem cell mobilization and autologous transplantation in multiple mieloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; 10: 395-404.
  105. Weaver CH, Schulman KA, Wilson-Relyea B, Birch R, West W, Buckner CD. Randomized comparison of granocyte colony-stimulating factor versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus intensive chemotherapy for peripheral blood stem cell mobilization and autologous transplantation in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2000; 18: 43-53.
  106. Verfaillie CM. Adhesion receptors as regulators of the hematopoietic process. *Blood* 1998; 92: 2609-2612.
  107. Vermeulen M, Le Pesteur F, Gagnerault MC, Mary JY, Sainteny F, Lepault F. Role of adhesion molecules in the homing and mobilization of murine hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 1998; 92: 894-900.
  108. Levesque JP, Takamatsu Y, Nilsson SK, Haylock DN, Simmons PJ. Vascular cell adhesion molecule-1 (CD106) is cleaved by neutrophil proteases in the bone marrow following hematopoietic progenitor cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 2001; 98: 1289-1297.
  109. Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit- ligand. *Cell* 2002; 109: 625-637.
  110. Levesque JP, Liu F, Simmons PJ, Betsuyaku T, Senior RM, Pham C et al. Characterization of hematopoietic progenitor mobilization in protease-deficient mice. *Blood* 2004; 104: 65-72.
  111. Cottler-Fox MH, Lapidot T, Petit I, Kollet O, DiPersio JF, Link D et al. Stem cell

- mobilization. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003;419–437.
112. To LB, Haylock DN, Simmons PJ, Juttner CA. The biology and clinical uses of blood stem cells. *Blood* 1997; 89: 2233–2258.
  113. Gazitt Y, Freytes CO, Callander N, Tsai TW, Alsina M, Anderson J et al. Successful PBSC mobilization with high- dose G-CSF for patients failing a first round of mobilization. *J Hematother* 1999; 8: 173–183.
  114. Boeve S, Strupeck J, Creech S, Stiff PJ. Analysis of remobilization success in patients undergoing autologous stem cell transplants who fail an initial mobilization: risk factors, cytokine use and cost. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 997–1003.
  115. Spitzer G, Adkins D, Mathews M, Velasquez W, Bowers C, Dunphy F et al. Dunphy F et al. Randomized comparison of G-CSF + GM- CSF vs G-CSF alone for mobilization of peripheral blood stem cells: effects on hematopoietic recovery after high-dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20: 921–930.
  116. Fruehauf S, Klaus J, Huesing J, Veldwijk MR, Buss EC, Topaly J et al. Efficient mobilization of peripheral blood stem cells following CAD chemotherapy and a single dose of pegylated G-CSF in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 743–750.
  117. Kobbe G1, Bruns I, Fenk R, Czibere A, Haas R. Pegfilgrastim for PBSC mobilization and autologous haematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2009 May;43(9):669-77.
  118. Chanswangphuwana C1, Kupatawintu P, Panjai P, Tunsittipun P, Intragumtornchai T, Bunworasate U. Successful peripheral blood stem cell mobilization using pegfilgrastim in allogeneic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2014 Mar;99(3):318-22.
  119. Frank Kroschinsky, Kristina Hölig, Gerhard Ehninger. The role of pegfilgrastim in mobilization of hematopoietic stem cells. *Transfusion and Apheresis Science* Volume 38, Issue 3, June 2008, Pages 237–244
  120. Steidl U, Fenk R, Bruns I, Neumann F, Kondakci M, Hoyer B et al. Successful transplantation of peripheral blood stem cells mobilized by chemotherapy and a single dose of pegylated G-CSF in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35: 33–36.
  121. Bruns I1, Steidl U, Kronenwett R, Fenk R, Graef T, Rohr UP, Neumann F, Fischer J, Scheid C, Hübel K, Haas R, Kobbe G. A single dose of 6 or 12 mg of pegfilgrastim for peripheral blood progenitor cell mobilization results in similar yields of CD34+ progenitors in patients with multiple myeloma. *Transfusion.* 2006 Feb;46(2):180-5.
  122. Fenk R, Hieronimus N, Steidl U, Bruns I, Graef T, Zohren F et al. Sustained G-CSF plasma levels following administration of pegfilgrastim fasten neutrophil reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous blood stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Exp Hematol* 2006; 34: 1296–1302.
  123. Ataergin S1, Arpaci F, Turan M, Solchaga L, Cetin T, Ozturk M, Ozet A, Komurcu S, Ozturk B. Reduced dose of lenograstim is as efficacious as standard dose of filgrastim for peripheral blood stem cell mobilization and transplantation: a randomized study in patients undergoing autologous peripheral stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2008 Aug;83(8):644-8.
  124. Keating GM. Lenograstim: a review of its use in chemotherapy-induced neutropenia, for acceleration of neutrophil recovery following haematopoietic stem

- cell transplantation and in peripheral blood stem cell mobilization. *Drugs*. 2011 Apr 16;71(6):679-707.
125. Richman CM, Weiner RS, Yankee RA. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood* 1976; 47: 1031–1039.
  126. De Arriba F, Lozano ML, Ortuño F, Heras I, Moraleda JM, Vicente V. Prospective randomized study comparing the efficacy of bioequivalent doses of glycosylated and nonglycosylated rG-CSF for mobilizing peripheral blood progenitor cells. BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY. 1997 Feb; 96(2): 418-420. PMID: 9029036.)
  127. Ficha técnica Granocyte (Lenograstim). Julio 2009
  128. Stiff PJ, Murgu AJ, Wittes RE, DeRisi MF, Clarkson BD. Quantification of the peripheral blood colony forming unit- culture rise following chemotherapy. Could leukocytaphereses replace bone marrow for autologous transplantation? *Transfusion* 1983; 23: 500–503.
  129. Neupogen (filgrastim) [package insert]. Amgen Inc.: Thousand Oaks, CA, 1991–2006.
  130. Duhrsen U, Villeval JL, Boyd J, Kannourakis G, Morstyn G, Metcalf D. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988; 72: 2074–2081.
  131. Schwartzberg LS, Birch R, Hazelton B, Tauer KW, Lee Jr P, Altemose R et al. Peripheral blood stem cell mobilization by chemotherapy with and without recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *J Hematother* 1992; 1: 317–327.
  132. Gomez Espuch J. Estudio de los mecanismos de la movilización de progenitores hematopoyéticos utilizando Taxanos y rhG-CSF. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Premio extraordinario del doctorado. 2001.
  133. Demirer T, Buckner CD, Bensinger WI. Optimization of peripheral blood stem cell mobilization. *Stem Cells* 1996; 14: 106–116.
  134. Ford CD, Greenwood J, Anderson J, Snow G, Petersen FB. CD34+ cell adhesion molecule profiles differ between patients mobilized with granulocyte-colony-stimulating factor alone and chemotherapy followed by granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion* 2006; 46: 193–198.
  135. Tricot G, Jagannath S, Vesole D, Nelson J, Tindle S, Miller L et al. Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. *Blood* 1995; 85: 588–596.
  136. Tarella C, Zallio F, Caracciolo D, Cherasco C, Bondesan P, Gavarotti P et al. Hematopoietic progenitor cell mobilization and harvest following an intensive chemotherapy debulking in indolent lymphoma patients. *Stem Cells* 1999; 17: 55–61.
  137. Russell NH, McQuaker G, Stainer C, Byrne JL, Haynes AP. Stem cell mobilisation in lymphoproliferative diseases. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 935–940.
  138. Kalaycio M, Rybicki L, Pohlman B, Sobecks R, Andresen S, Kuczkowski E et al. Risk factors before autologous stem-cell transplantation for lymphoma predict for secondary myelodysplasia and acute myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3604–3610.
  139. Kanfer EJ, McGuigan D, Samson D, Abboudi Z, Abrahamson G, Apperley JF et al. High-dose etoposide with granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of peripheral blood progenitor cells: efficacy and toxicity at three dose levels. *Br J*

- Cancer 1998; 78: 928–932.
140. Gotteris R, Hernandez-Boluda JC, Teruel A, Gomez C, Lis MJ, Terol MJ et al. Impact of different strategies of second- line stem cell harvest on the outcome of autologous transplantation in poor peripheral blood stem cell mobilizers. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 847–853.
  141. Miller CB, Lazarus HM. Erythropoietin in stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 1011–1016.
  142. Glaspy JA, Shpall EJ, LeMaistre CF, Briddell RA, Menchaca DM, Turner SA et al. Peripheral blood progenitor cell mobilization using stem cell factor in combination with filgrastim in breast cancer patients. *Blood* 1997; 90: 2939–2951.
  143. Matthys P, Hatse S, Vermeire K, Wuyts A, Bridger G, Henson GW et al. AMD3100, a potent and specific antagonist of the stromal cell-derived factor-1 chemokine receptor CXCR4, inhibits autoimmune joint inflammation in IFN-gamma receptor-deficient mice. *J Immunol* 2001; 167: 4686–4692.
  144. Hatse S, Princen K, Bridger G, De Clercq E, Schols D. Chemokine receptor inhibition by AMD3100 is strictly confined to CXCR4. *FEBS Lett* 2002; 527: 255–262.
  145. Gerlach LO, Skerlj RT, Bridger GJ, Schwartz TW. Molecular interactions of cyclam and bicyclam non-peptide antagonists with the CXCR4 chemokine receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 14153–14160.
  146. Flomenberg N, Devine SM, Dipersio JF, Liesveld JL, McCarty JM, Rowley SD et al. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. *Blood* 2005; 106: 1867–1874.
  147. Calandra G, McCarty J, McGuirk J, Tricot G, Crocker SA, Badel K et al. AMD3100 plus G-CSF can successfully mobilize CD34+ cells from non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's disease and multiple myeloma patients previously failing mobilization with chemotherapy and/or cytokine treatment: compassionate use data. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 331–338.
  148. DiPersio J, Stadtmauer EA, Nademanee AP, Stiff P, Micallef I, Angell J et al. A phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo controlled, comparative trial of AMD3100 (plerixafor)+G-CSF vs G-CSF+ placebo for mobilization in multiple myeloma (MM) patients for autologous hematopoietic stem cell (aHSC) transplantation. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2007; 110: 445.
  149. Nademanee AP1, DiPersio JF, Maziarz RT, Stadtmauer EA, Micallef IN, Stiff PJ, Hsu FJ, Bridger G, Bolwell BJ. Plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor versus placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of CD34(+) hematopoietic stem cells in patients with multiple myeloma and low peripheral blood CD34(+) cell count: results of a subset analysis of a randomized trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012 Oct;18(10):1564-72.
  150. Ficha técnica Mozobil (Plerixaflor).
  151. Valbonesi M, Carlier P, Bo A, Stura P, Massazza S, Sanfilippo B, Varinelli I. The MCS + revision A2 for highly efficient PBSC collection. *Transfus Apher Sci*. 2001 Jun;24(3):293-6.
  152. Heuft HG, Dubiel M, Kingreen D, Oertel J, De Reys S, Rick O, Serke S, Schwella N. Automated collection of peripheral blood stem cells with the COBE spectra for autotransplantation. *Vox Sang*. 2000;79(2):94-9.
  153. Perez-Calvo J. Factores que influyen sobre el injerto en el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica; Director: Villegas Martinez A.

- Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Medicina, Departamento de Medicina, 2003.
154. Melissa C Bucknoff, Rita M Hanel, Steven L Marks, Alison A Motsinger-Reif, Steven E Suter. Evaluation of thromboelastography for prediction of clinical bleeding in thrombocytopenic dogs after total body irradiation and hematopoietic cell transplantation. *American Journal of Veterinary Research* 05/2014; 75(5):425-32.
  155. Fei-yi Wu, Kee Khiang Heng, Rohani Binte Salleh, Teck Guan Soh, Jing Jing Lee, Joanna Mah, Yeh Ching Linn, Yvonne Loh, William Hwang, Lip Kun Tan, Ping Law, Yeow Tee Goh. Comparing peripheral blood stem cell collection using the COBE Spectra, Haemonetics MCS+, and Baxter Amicus. *Transfusion and Apheresis Science* 47 (2012) 345–350.
  156. Giralt S, Stadtmauer EA, Harousseau JL, Palumbo A, Bensinger W, Comenzo RL, Kumar S, Munshi NC, Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, San Miguel J, Ludwig H, Hajek R, Jagannath S, Blade J, Lonial S, Dimopoulos MA, Einsele H, Barlogie B, Anderson KC, Gertz M, Attal M, Tosi P, Sonneveld P, Boccadoro M, Morgan G, Sezer O, Mateos MV, Cavo M, Joshua D, Turesson I, Chen W, Shimizu K, Powles R, Richardson PG, Niesvizky R, Rajkumar SV, Durie BG; IMWG. International myeloma working group (IMWG) consensus statement and guidelines regarding the current status of stem cell collection and high-dose therapy for multiple myeloma and the role of plerixafor (AMD 3100). *Leukemia*. 2009 Oct;23(10):1904-12.
  157. Gutensohn K, Carrero I, Krueger W, Kroeger N, Schäfer P, Luedemann K, Kuehnl P. Semi-automated flow cytometric analysis of CD34-expressing hematopoietic cells in peripheral blood progenitor cell apheresis products. *Transfusion*. 1999 Nov-Dec;39(11-12):1220-6.
  158. Moog R. Apheresis techniques for collection of peripheral blood progenitor cells. *Transfus Apher Sci*. 2004 Dec;31(3):207-20.
  159. Nicola Piccirillo, Michele Vacca, Alessandro Lanti, Francesco Ipsevich, Maddalena Maresca, Elena Fiorelli, Maria Bianchi, Gaspare Adorno, Luca Pierelli, Ignazio Majolino, Giuseppe Leone, Gina Zini. Poor mobilizer: A retrospective study on proven and predicted incidence according to GITMO criteria. *Transfusion and Apheresis Science* 47 (2012) 217–221.
  160. Önder Arslan<sup>1</sup>, Rainer Moog. Mobilization of peripheral blood stem cells. *Transfusion and apheresis Science* October 2007 Volume 37, Issue 2, Pages 179–185.
  161. Lysák D, Kořístek Z, Gašová Z, Skoumalová I, Jindra P. Efficacy and safety of peripheral blood stem cell collection in elderly donors; does age interfere? *J Clin Apher*. 2010 Oct 27.
  162. Dubrovsky L, Wong EC, Perez-Albuern E, Loechelt B, Kamani N, Sande J, Mintz K, Paul W, Luban NL, Rood BR, Fry T. CD34<sup>+</sup> collection efficiency as a function of blood volumes processed in pediatric autologous peripheral blood stem cell collection. *J Clin Apher*. 2011;26(3):131-7.
  163. Zubair AC, Grant R, Wu W, Tun H, Rivera C, Moreno-Aspitia A, et al. Platelet count is a sensitive predictor of autologous peripheral blood progenitor cell collection yield in previously treated plasma cell disease patients. *Transfusion* 2008;48:1106-14.
  164. X Papanikolaou, E R Rosenbaum, L N Tyler, J Sawyer, C J Heuck, B Barlogie and M Cottler-Fox. Hematopoietic progenitor cell collection after autologous transplant for multiple myeloma: low platelet count predicts for poor collection and sole use of



- resulting graft enhances risk of myelodysplasia. *Leukemia* (2014) 28, 888–893.
165. Morton J, Morton A, Bird R, Hutchins C, Durrant S. Predictors for optimal mobilization and subsequent engraftment of peripheral blood progenitor cells following intermediate dose cyclophosphamide and G-CSF. *Leuk Res* 1997;21:21-7.
  166. Mariana Pires Garcia, Mariela Granero Farias, Cláudio Galvão de Castro Júnior. Analysis of predictive factors of complete blood count for a high-yield hematopoietic stem cell apheresis collection. *Journal of Molecular Pathophysiology* Received: October 13, 2014 Accepted: December 21, 2014.
  167. Comenzo RL, Vosburgh E, Weintraub LR, et al. Collection of mobilized blood progenitor cells for hematopoietic rescue by large-volume leukapheresis. *Transfus Med Hemother* 2013;40:251–257
  168. Comenzo RL, Malachowski ME, Miller KB, et al. Large-volume leukapheresis for collection of mononuclear cells for hematopoietic rescue in Hodgkin's disease. *Transfusion* 1995;35:493-7.
  169. Hillyer CD, Lackey DA 3d, Hart KK, et al. CD34+ progenitors and colony-forming units–granulocyte macrophage are recruited during large-volume leukapheresis and concentrated by counterflow centrifugal elutriation. *Transfusion* 1995;35:42-5.
  170. Hillyer CD, Swenson RB, Hart KK, et al. Peripheral blood stem cell acquisition by large-volume leukapheresis in growth factor-stimulated and unstimulated rhesus monkeys: development of an animal model. *Transfusion* 1993;33:316-21.
  171. Humpe A., J. Riggert, U. Munzel, L.M. Repas-Humpe, K. Vehmeyer, E. Brunner, B. Wörmann, and M. Köhler. A prospective, randomized, sequential, crossover trial of large-volume versus normal-volume leukapheresis procedures: effect on progenitor cells and engraftment. *Exp Hematol* 1993;21:1455-9.
  172. Hillyer CD. Large volume leukapheresis to maximize peripheral blood stem cell collection. *TRANSFUSION* 1999;39:1120-1127.
  173. Pettengell R, Morgenstern GR, Woll PJ, et al. Peripheral blood progenitor cell transplantation in lymphoma and leukemia using a single apheresis. *J Hematother* 1993;2:529-32.
  174. Negrin RS, Kusnierz-Glaz CR, Still BJ, et al. Transplantation of enriched and purged peripheral blood progenitor cells from a single apheresis product in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1993;82:3770-7.
  175. Hillyer CD, Tiegerman KO, Berkman EM. Increase in circulating colony-forming units–granulocyte-macrophage during large-volume leukapheresis: evaluation of a new cell separator. *Blood* 1995;85:3334-41.
  176. Malachowski ME, Comenzo RL, Hillyer CD, Tiegerman KO, Berkman EM. Large-volume leukapheresis for peripheral blood stem cell collection in patients with hematologic malignancies. *Transfusion* 31 327-332, 1991.
  177. Zingsem J, Serke S, Zeiler T, Zimmermann R, Schwella N, Weisbach V, Eckstein R. Mobilisierung von hematopoetischen Vorläuferzellen im peripheren Blut durch die Leukapherese. *Transfusion* 32:732-735, 1992.
  178. Cassens U, Barth IM, Baumann C, Fischer RJ, Kienast J, Vormoor J, Sibrowski W. Factors affecting the efficacy of peripheral blood progenitor cells collections by large-volume leukaphereses with standardized processing volumes. *Transfusion* 2000;40:368–374.
  179. Abrahamsen JF, Stamnesfet S, Liseth K, Hervig T, Bruserud O. Large-volume

- leukapheresis yields more viable CD34+ cells and colony-forming units than normal-volume leukapheresis, especially in patients who mobilize low numbers of CD34+ cells. *Transfusion* 2004;44:1593–1602.
180. Majado MJ, Minguela A, Gonzalez-Garcia C, Salido E, Blanquer M, Funes C, Insausti CL, Garcia-Hernandez AM, Moraleda JM, Morales A. Large-volume apheresis facilitates autologous transplantation of hematopoietic progenitors in poor mobilizer patients. *Transfusion* 2005;45:248–253.
  181. Murea S., Hartmut Goldschmidt, Uwe Hahn, Margit Pforsich, Marion Moos, and Rainer Haas. Successful Collection and Transplantation of Peripheral Blood Stem Cells in Cancer Patients Using Large-Volume Leukaphereses. *J Clin Apher* 2009;24:12–17.
  182. Humpe A., Ute Buwitt-Beckmann Natalie Schub Martin Gramatzki Andreas Günther. Successful Mobilization, Intra-Apheresis Recruitment, and Harvest of Hematopoietic Progenitor Cells by Addition of Plerixafor and Subsequent Large-Volume Leukapheresis. *Transfusion Medicine*, 1999, 9, 311–320.
  183. Peters WP, Shpall EJ, Jones RB, Olsen GA, Bast RC, Gockerman JP, Moore JO. High-dose combination alkylating agents with bone marrow support as initial treatment for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1988;6:1368-1376.
  184. Antman K, Ayash L, Elias A, Wheeler C, Hunt M, Eder JP, Teicher BA, Critchlow J, Bibbo J, Schnipper LE, . A phase II study of high-dose cyclophosphamide, thiotepa, and carboplatin with autologous marrow support in women with measurable advanced breast cancer responding to standard-dose therapy. *J Clin Oncol* 1992;10:102-110.
  185. Ketterer N, Sonet A, Dumontet C, Moullet I, Thieblemont C, Espinouse D, Bouafia F, Coiffier B, Salles G. Toxicities after peripheral blood progenitor cell transplantation for lymphoid malignancies: analysis of 300 cases in a single institution. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:1309-1315.
  186. D'Hondt L, Wu J, Andre M, Lerberghe C, Guillaume T, Feyens AM, Humblet Y, Dromelet A, Chatelain B, Longueville J, Stewart F, D'Hondt V, Symann M. Clearance kinetics of CD34+ cells from peripheral blood: an independent predictor of hematologic recovery after high-dose chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:483-489.
  187. Prosper F, Stroncek D, McCarthy JB, Verfaillie CM. Mobilization and homing of peripheral blood progenitors is related to reversible downregulation of alpha4 beta1 integrin expression and function. *J Clin Invest* 1998;101:2456-2467.
  188. Sheridan WP: Transplantation of mobilized peripheral blood stem cells: role of filgrastim. *J Hematother* 1994;3:349-352.
  189. Majado MJ, Salgado-Cecilia MG, Blanquer M, Funes C, González-García C, Insausti CL, Parrado A, Morales A, Minguela A, Moraleda JM. Cryopreservation impact on blood progenitor cells: influence of diagnoses, mobilization treatments, and cell concentration. *Transfusion*. 2011 Apr;51(4):799-807.
  190. Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, Nayar R, Chin-Yee I. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering*.
  191. Sutherland DR, Anderson L et al. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering*. *J. Hematother*. 1996 Jun;5(3):213-226

192. Pike BL, Robinson WA. Human bone marrow growth in agar-gel. *J Cell Physiol.* 1970 76(1):77-84
193. Bensinger W, Appelbaum F, Rowley S et ál. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral blood stem cells. *J Clin Oncol* 1995; 13: 2547-55.
194. Ketterer N, Salles G, Raba M et ál. High CD34+ cell counts decrease hematologic toxicity of autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Blood* 1998; 91: 3148-55.
195. Perea G, Sureda A et al. Predictive factors for a successful mobilization of peripheral blood CD34+ cells in multiple mieloma. *Ann Hematol* 2001;80:592-597.
196. Fu S, Liesveld J. Mobilization of hematopoietic stem cells. *Blood Rev* 2000; 14: 205–218.
197. Malik S, Bolwell B, Rybicki L, Copelan O, Duong H, Dean R, Sobecks R, Kalaycio M, Sweetenham J, Pohlman B, Andresen S, Tench S, Koo A, Figueroa P, Copelan E. Apheresis days required for harvesting CD34+ cells predicts hematopoietic recovery and survival following autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2011 Jan 24.

**ANEXO**



## DIFUSIÓN DE TRABAJOS CIENTIFICOS RELACIONADOS.

1.- **LARGE VOLUME APHERESIS IS EFFICIENT INDEPENDENTLY OF THE PRE-APHERESIS AMOUNT OF CD34+ CELLS.** Raúl Pérez-López, María Juliana. Majado, Ana García-Hernández, Valentín Cabañas-Perianes, Miguel Blanquer, María José Romero-Orcajada, José María Moraleda. XVII Congreso Internacional de la Asociación Europea de Hematología. Amsterdam (Holanda), 14 al 17 de Junio de 2012.

2.- **ARE THE PATIENTS WITH MYELOMA MULTIPLE BETTER MOBILIZERS THAN THOSE WITH HODKING'S LYMPHOMA?** Raúl Pérez-López, María Juliana. Majado, Ana García-Hernández, Valentín Cabañas-Perianes, Miguel Blanquer, María José Romero-Orcajada, José María Moraleda. XVII Congreso Internacional de la Asociación Europea de Hematología. Amsterdam (Holanda), 14 al 17 de Junio de 2012.

3.- **COMPARISON OF DIFFERENT MOBILIZATION REGIMENS IN LARGE VOLUME APHERESIS FOR AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTS.** Raúl Pérez-López, María Juliana. Majado, Ana García-Hernández, Miguel Blanquer, María José Romero-Orcajada, Valentín Cabañas-Perianes, Consuelo González-García, A. Bosch, Consuelo Funes, Eduardo Salido, José María Moraleda. XXXVIII Reunión anual de la Sociedad Europea de Trasplante de sangre y Médula ósea (EBMT). Ginebra (Suiza). Del 1 al 4 de abril de 2012.

4.- **CIFRA DE PLAQUETAS BASALES COMO PREDICTOR DE LA EFICACIA DE MOVILIZACIÓN EN TRASPLANTES AUTÓLOGOS DE SANGRE PERIFÉRICA.** R. Pérez López, M.J. Majado, A. García Hernández, V. Cabañas Perianes, M. Blanquer, M.J. Romero Orcajada, C. Funes, C. González García, J.M. Moraleda LIV Reunión Nacional de la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) y XXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH), Salamanca, 18 a 20 de Octubre de 2012.

5.- **AUTOLOGOUS PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION IN POOR MOBILIZER PATIENTS.** Raúl Pérez-López, Ana Garcia-Hernandez, Maria Juliana Majado, Miguel Blanquer, Eduardo Salido-Fierrez, Valentin Cabañas-Perianes, Mercedes Berenguer-Piqueras, Faustino Garcia-Candel, Antonia Melero-Amor, M. Carmen Freire, Pilar Menchón, Jose Maria Moraleda-Jimenez. XLI Reunión anual de la Sociedad Europea de Trasplante de sangre y Médula ósea (EBMT). Estambul (Turquía). Del 22 al 25 de marzo de 2015.

6.- **AUTOLOGOUS PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION IN VERY POOR MOBILIZER PATIENTS.** Raúl Perez-Lopez, Ana Garcia-Hernandez, Maria Juliana Majado, Miguel Blanquer, Eduardo Salido-Fierrez, Valentin Cabañas-Perianes, Mercedes Berenguer-Piqueras, Faustino Garcia-Candel, Antonia Melero-Amor, M. Carmen Freire, Pilar Menchón, Jose Maria Moraleda-Jimenez. XLI Reunión anual de la Sociedad Europea de Trasplante de sangre y Médula ósea (EBMT). Estambul (Turquía). Del 22 al 25 de marzo de 2015.