

ARTÍCULO ORIGINAL

Utilidad de células nucleadas totales para colecta de hematoprogenitores en trasplante autólogo con enfermedades autoinmunes

Utility of nuclear cells to hematoprogenitors collection in autologous transplantation of autoimmune diseases

Palabras clave:
células nucleadas totales, CD34⁺, aféresis, trasplante autólogo, enfermedades autoinmunes.

Keywords:
total nucleated cells, CD34⁺, apheresis, autologous transplant, autoimmune diseases.

Alvarado-Navarro Dalila Marisol,* Chávez-Estrada Yair Omar,*
Moncada-Saucedo Nidia Karina,* Hernández-Navarro Ana Karen,* Ake-Uc Martha Berenice,*
Gómez-De León Andrés,* Salazar-Riojas Rosario*

RESUMEN

Introducción: el conteo de CD34⁺ es útil para predecir el momento óptimo de iniciar la aféresis de células progenitoras hematopoyéticas (CPH); sin embargo, es recurso limitado, y puede no estar disponible. En contraste, la cuantificación de células nucleadas totales (CNT) es accesible y puede guiar la práctica clínica de aféresis. **Objetivo:** evaluar la utilidad de CNT para predecir el momento óptimo de iniciar la aféresis de CPH en autotrasplante de pacientes con enfermedades autoinmunes. **Material y métodos:** se incluyeron datos de 256 pacientes con enfermedades autoinmunes con autotrasplante, se evaluaron sus datos, registrando resultados de CD34⁺ y CNT previo a la aféresis. Se evaluó la utilidad de las CNT para predecir el momento óptimo para el inicio de la aféresis y obtener una cosecha de CD34⁺ > 2 × 10⁶/kg. **Resultados:** previo a la aféresis, la mediana de CNT fue 1.4 k/μL; y CD34⁺ 59.5/μL. El área bajo la curva de CNT previo a la aféresis con CD34⁺ > 2 × 10⁶/kg fue 0.75 (IC 95% 0.67-0.84, p < 0.001), con punto de corte de 0.95 k/μL de CNT. **Conclusiones:** el momento óptimo para predecir el inicio de la aféresis de CPH y cosechar CD34⁺ > 2 × 10⁶/kg en pacientes con enfermedades autoinmunes es al obtener > 0.95 k/μL de CNT.

ABSTRACT

Introduction: the CD34⁺ is useful to predict the optimal time to start hematopoietic progenitor cell (HPC) apheresis; however, it is a limited resource, and may not be available. In contrast, the quantification of total nucleated cells (CNT), is accessible and can guide the clinical practice of apheresis. **Objective:** to evaluate the usefulness of CNT to predict the optimal time to start apheresis of HPC in autologous transplants with autoimmune diseases. **Material and methods:** data from 256 patients with autoimmune disease with auto transplantation were included, and data were evaluated by recording CD34⁺ and CNT results before apheresis. The utility of CNT to predict the optimal time to start apheresis and obtain a CD34⁺ harvest > 2 × 10⁶/kg was evaluated. **Results:** before apheresis, the median CNT was 1.4 k/μL; and CD34⁺ 59.5/μL. The ROC analysis of CNT before apheresis with CD34⁺ > 2 × 10⁶/kg was 0.75 (CI 95% 0.67-0.84, p < 0.001), with a cut off 0.95 k/μL of CNT. **Conclusions:** the optimal time to predict to start HPC apheresis and harvest > 2 × 10⁶/kg, in patients with autoimmune disease, is when obtaining > 0.95 k/μL.

* Universidad Autónoma de Nuevo León, Servicio de Hematología del Hospital Universitario «Dr. José Eleuterio González». Monterrey, Nuevo León.

Correspondencia:
Salazar-Riojas Rosario
E-mail: salazar.hemato@gmail.com

Recibido: 07/11/2022
Aceptado: 30/01/2023

**INTRODUCCIÓN**

En los últimos años el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se ha utilizado cada vez más para el tratamiento de enfermedades autoinmunes,¹ ya que este procedimiento intensivo único tiene como

objetivo proporcionar remisión a largo plazo sin tratamiento mediante la reinducción de la autotolerancia, demostrando mayor beneficio a diferencia de la supresión crónica de la función inmunitaria.² Existen diferentes estrategias de autotrasplante que consisten en movilización con ciclofosfamida y factor estimulante de co-

Citar como: Alvarado-Navarro DM, Chávez-Estrada YO, Moncada-Saucedo NK, Hernández-Navarro AK, Ake-Uc MB, Gómez-De León A et al. Utilidad de células nucleadas totales para colecta de hematoprogenitores en trasplante autólogo con enfermedades autoinmunes. Rev Mex Patol Clin Med Lab. 2022; 69 (2): 61-64. <https://dx.doi.org/10.35366/112004>

lonia de granulocitos (G-CSF) seguido de la aféresis de CPH, condicionamiento e infusión.²

Se ha demostrado que los recuentos de CD34⁺ en sangre periférica pueden predecir la movilización deficiente, es decir, aquéllos que obtienen un recuento < 10 células CD34⁺/μL indican mala movilización celular, por consiguiente, conlleva un rendimiento inadecuado de la aféresis. Por lo tanto, para garantizar la recuperación hematológica posterior al autotrasplante de CPH es necesario obtener una celularidad mínima de 2×10^6 CD34⁺/kg, por lo que es necesario realizar un recuento de células CD34⁺ para predecir el momento óptimo de iniciar la aféresis de CPH, es decir, cuando el paciente obtenga > 10 células CD34⁺/μL.³ Por consecuencia, la determinación de CD34⁺ es imprescindible, ya que en este marcador recae el diagnóstico y manejo de pacientes con mala movilidad. Por otro lado, el conteo de células nucleadas totales (CNT) es una herramienta de fácil acceso que puede utilizarse para guiar la práctica clínica de la aféresis.^{4,5}

El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad de las CNT para predecir el momento óptimo de iniciar la aféresis de CPH en trasplante autólogo con enfermedades autoinmunes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo realizado en el Servicio de Hematología del Hospital Universitario «Dr. José Eleuterio González»; se evaluaron los 256 candidatos a trasplante autólogo con enfermedades autoinmunes, registrando los resultados de cuantificación de CD34⁺ y CNT previo al procedimiento de aféresis.

La cuantificación de CD34⁺ se llevó a cabo de acuerdo con los lineamientos ISHAGE (*International Society of Hemotherapy and Graft Engineering*), en ensayo de plataforma única con BD Stem Cell Enumeration Kit (BD Biosciences) y el citómetro de flujo utilizado fue BD FACSCanto II. El conteo de CNT se obtuvo por biometría

hemática procesada en contador celular Sysmex XS-1000i y Sysmex XN-1000.

La estrategia de movilización fue ciclofosfamida 200 mg/kg por dos días, 600 μg de G-CSF por siete días (*Figura 1*).⁶ Posterior a la movilización las CPH fueron obtenidas por aféresis; los dispositivos de aféresis empleados fueron COBE Spectra, Spectra Optia (Terumo BCT) y Amicus (Fresenius Kabi).

El análisis se realizó mediante el programa estadístico SPSS v. 22. Se elaboró estadística descriptiva para medidas de tendencia central y dispersión. Se evaluó la normalidad de las variables con la prueba de Kolmogórov-Smirnov. La capacidad de las CNT para predecir el momento óptimo para el inicio de la aféresis y obtener una cosecha de CD34⁺ > 2×10^6 /kg se evaluó mediante curva de ROC, tomando como valor significativo $p < 0.001$.

RESULTADOS

El trasplante autólogo para tratamiento de enfermedades tuvo un incremento de 136.8% en los últimos cinco años, ya que en el periodo de 2013-2017 se realizaron 76 trasplantes, comparado con el periodo de 2018-2022 donde se efectuaron 180 procedimientos.

Se incluyeron datos de 256 pacientes candidatos a trasplante autólogo con enfermedades autoinmunes, de los cuales 81.5% con diagnóstico de esclerosis múltiple, seguidos de 14.5% con diabetes mellitus (*Tabla 1*).

Dentro de los parámetros previo a la aféresis, la mediana de leucocitos fue de 4.0 k/μL (1.0-60 k/μL) con un valor relativo de CNT de 34.7% (5.5-94.7%) y absoluto de 1.4 k/μL (0.20-13.7 k/μL) y de CD34⁺ 59.5 /μL (2.0-68 k/μL). Se observó una correlación baja de CNT y CD34⁺ (r^2 lineal = 0.239).

Con relación a la celularidad obtenida en la cosecha, 93.8% obtuvo CD34⁺ > 2×10^6 /kg con una mediana de 8.8 CD34⁺ × 10⁶/kg (0.2-43.1 CD34⁺ × 10⁶/kg).

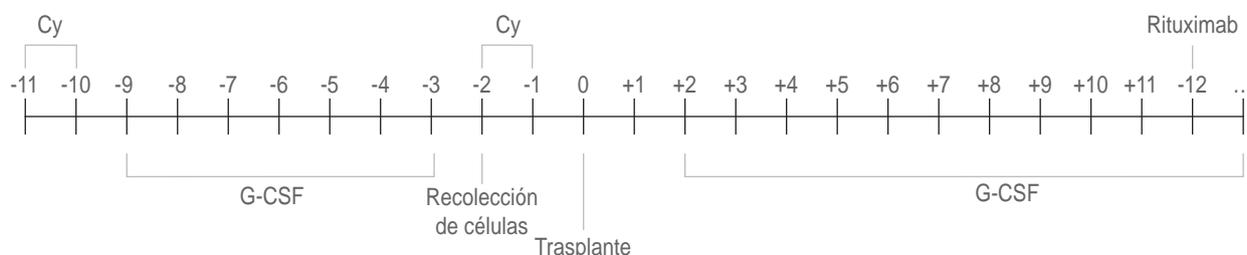


Figura 1: Régimen de acondicionamiento mexicano empleado para el autotrasplante en pacientes con enfermedades autoinmunes. Cy = ciclofosfamida. G-CSF = factor estimulante de colonias de granulocitos.

Tabla 1: Características de los pacientes (N = 256).

	n (%)
Edad [años]*	43 (2-69)
Género	
Femenino	160 (62.5)
Masculino	96 (37.5)
Diagnóstico	
Esclerosis múltiple	209 (81.6)
Diabetes mellitus tipo I	37 (14.5)
Artritis idiopática juvenil	3 (1.2)
Esclerodermia	2 (0.8)
Otros	5 (2.0)
Datos previos a aféresis	
Leucocitos [k/μL]*	4.0 (1-60.0)
CNT [k/μL]*	1.4 (0.2-13.7)
CD34 ⁺ /μL*	59.5 (2.0-680)
Datos de aféresis	
CD34 ⁺ × 10 ⁶ /kg*	8.8 (0.2-43.1)
CD34 ⁺ > 2 × 10 ⁶ /kg	240 (93.8)

CNT = células nucleadas totales.
* Valores expresados en mediana (rango).

La cuantificación de CD34⁺ previo a la aféresis con cosecha exitosa obtuvo un área bajo la curva de 0.92 (IC 95% 0.87-0.84, $p < 0.001$) con un punto de corte de 10.4 CD34⁺/μL con sensibilidad de 95%, especificidad de 50% y 96% de valor predictivo positivo.

El área bajo la curva de CNT previo a la aféresis con CD34⁺ > 2 × 10⁶/kg fue de 0.75 (IC 95% 0.67-0.84, $p < 0.001$) estableciendo un punto de corte de 0.95 k/μL de CNT con sensibilidad de 70.8%, especificidad de 62.5% y 97% de valor predictivo positivo y con una proporción de falsos negativos de 29.1% y falsos positivos de 37.5% (Figuras 2 y 3).

DISCUSIÓN

El trasplante de CPH autólogo es una opción terapéutica para pacientes con enfermedades autoinmunes que se ha incrementado a nivel internacional en los últimos años,² de acuerdo con los resultados obtenidos esta terapia tuvo un incremento de 70.3% con relación a los últimos cinco años.

Dentro del grupo de enfermedades autoinmunes, el diagnóstico de mayor prevalencia que se realizó en trasplante autólogo fue esclerosis múltiple (81.5%), lo cual se justifica, ya que en esta etiología se ha asociado mayor beneficio a largo plazo, cambiando la indicación de incluir pacientes con enfermedad remitente recurrente.^{1,2}

La predicción del inicio de la aféresis de CPH se considera crítica debido a la eficacia del producto mínimo recolectado; algunas variables de sangre periférica han sido estudiadas para correlacionar las células CD34⁺ con leucocitos, monocitos y CNT. Hasta ahora el CD34⁺ es la única variable que ha demostrado tener utilidad para este fin.⁷ Sin embargo, es un recurso limitado en diversos centros hospitalarios, puesto que requiere equipo especializado y personal altamente capacitado, lo que incrementa los costos asociados al trasplante.

Kai Gutensohn y colaboradores demostraron una correlación negativa nula entre los leucocitos de la sangre periférica y el CD34⁺ ($r = -0.02$), donde el CD34⁺ continúa siendo el estándar de oro.⁷ Existen reportes que describen el recuento de leucocitos y CNT en leucoaféresis con correlación baja, pero significativa ($r = 0.383$, $p < 0.001$),⁸ de manera similar a los datos obtenidos en este centro ($r = 0.239$).

El área bajo la curva (AUC) de CNT previo a la aféresis contra el rendimiento final de CD34⁺ fue determinado por Yang S y colaboradores⁹ en pacientes con enfermedades hematológicas malignas, ésta fue AUC de 0.806 ($p = 0.004$), además estableció un valor de corte de 1.4 k/μL con sensibilidad y especificidad de 73 y 80% respectivamente en comparación con pacientes con enfermedades autoinmunes, el AUC fue 0.75 ($p < 0.001$) estableciendo un punto de corte inferior (0.95 k/μL) con 70.8% de sensibilidad y 62.5% específico.

CONCLUSIONES

Por lo anterior, los datos sugieren que la determinación de CNT con analizadores hematológicos automatizados

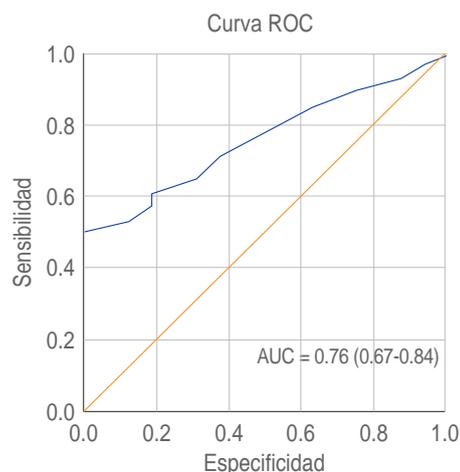
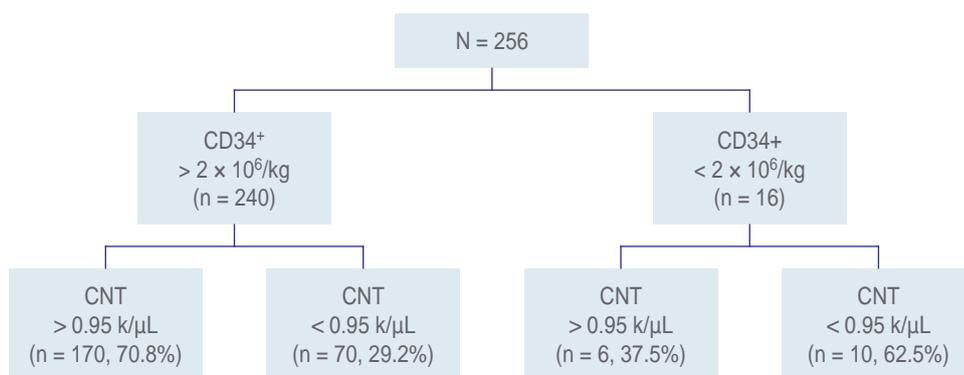


Figura 2: Área bajo la curva de células nucleadas totales previo a la aféresis.

**Figura 3:**

Distribución de pacientes de acuerdo con el conteo de CD34+ y células nucleadas totales (CNT).

es de utilidad para predecir el momento óptimo para el inicio de la aféresis de CPH y cosechar CD34⁺ > 2 × 10⁶/kg, en pacientes con enfermedades autoinmunes, estableciendo un punto de corte > 0.95 k/μL de CNT, además de ofrecer ventajas como el fácil acceso, operador independiente y asequibilidad.

REFERENCIAS

- Alexander T, Greco R, Snowden JA. Hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune disease. *Annu Rev Med.* 2021; 72: 215-228.
- Balassa K, Danby R, Rocha V. Haematopoietic stem cell transplants: principles and indications. *Br J Hosp Med (Lond).* 2019; 80 (1): 33-39.
- Ataca Atilla P, Bakanay Ozturk SM, Demirer T. How to manage poor mobilizers for high dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation? *Transfus Apher Sci.* 2017; 56 (2): 190-198.
- Remberger M, Torlén J, Ringdén O, Engstrom M, Watz E, Uhlin M et al. Effect of total nucleated and CD34(+) cell dose on outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015; 21 (5): 889-893.
- Pura Krishnamurthy K, Sarathy V, Jayappa SB, Badarkhe GV, Kumar Ks R, Thianeshwaran S et al. Study of peripheral mononuclear cells and CD34 levels as a predictive marker for initiating apheresis in autologous stem cell transplant. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2021; 15 (3): 170-177.
- Murrieta-Álvarez I, Cantero-Fortiz Y, León-Peña AA, Olivares-Gazca JC, Priesca-Marín JM, Ruiz-Delgado GJ et al. The 1,000th transplant for multiple sclerosis and other autoimmune disorders at the HSCT-México program: a myriad of experiences and knowledge. *Front Neurol.* 2021; 12: 647425.
- Gutensohn K, Magens MM, Kuehl P, Zeller W. Increasing the economic efficacy of peripheral blood progenitor cell collections by monitoring peripheral blood CD34+ concentrations. *Transfusion.* 2010; 50 (3): 656-662.
- Fontao-Wendel R, Lazar A, Melges S, Altobeli C, Wendel S. The absolute number of circulating CD34+ cells as the best predictor of peripheral hematopoietic stem cell yield. *J Hematother.* 1999; 8 (3): 255-262.
- Yang SM, Chen H, Chen YH, Zhu HH, Zhao T, Liu KY. Dynamics of monocyte count: a good predictor for timing of peripheral blood stem cell collection. *J Clin Apher.* 2012; 27 (4): 193-199.