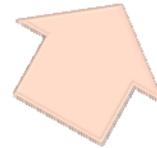


# **El laboratorio de Hematología**

## **Trasplante de progenitores hematopoyéticos**

**M Soledad Noya Pereira  
Hematología CHUAC  
28 oct 2011**

# Hematología: Especialidad Única



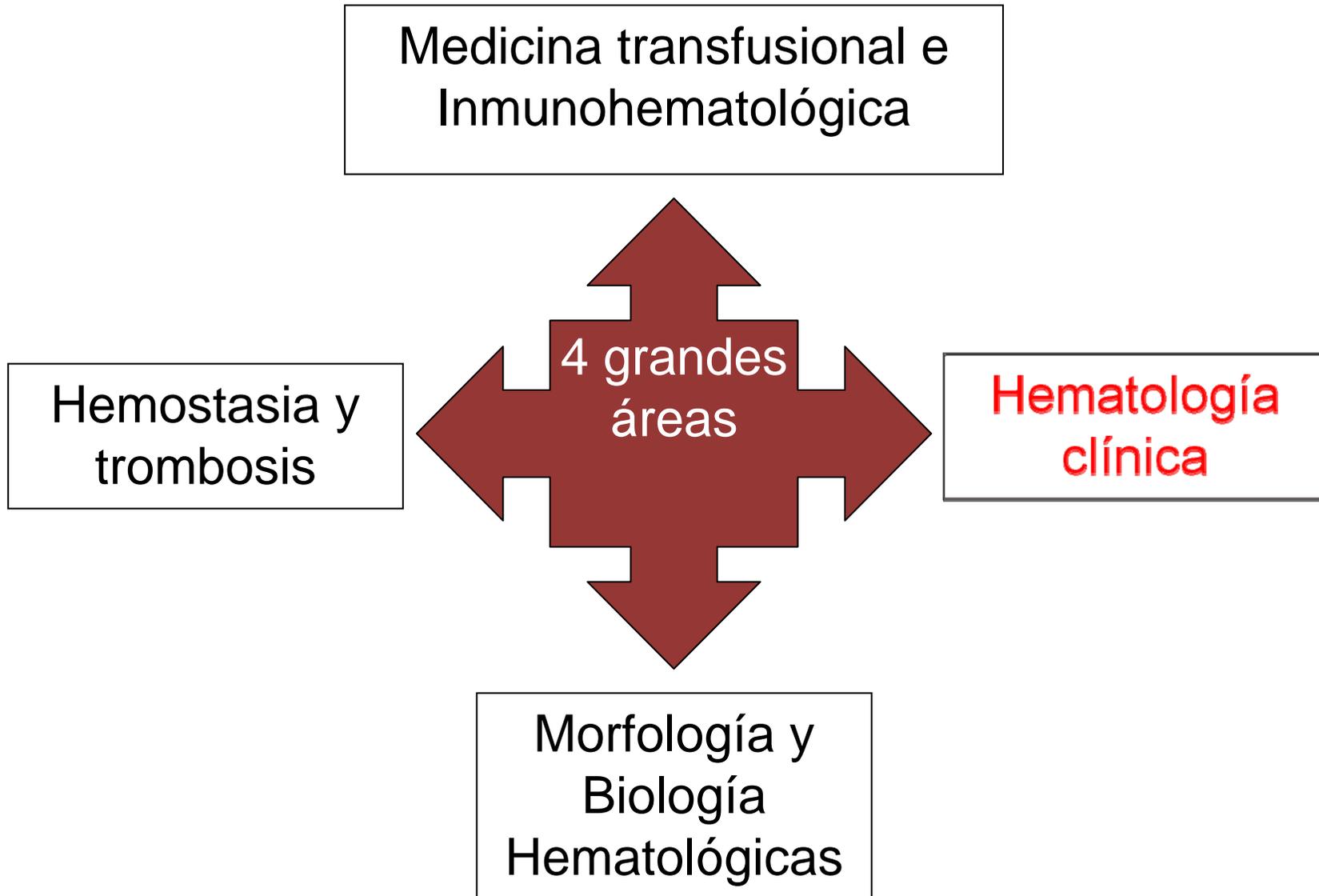
Medicina transfusional e  
Inmunohematológica

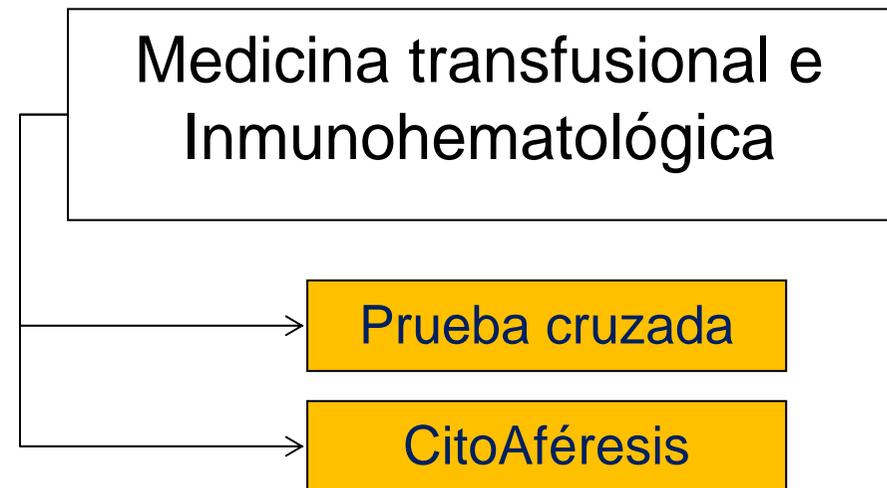
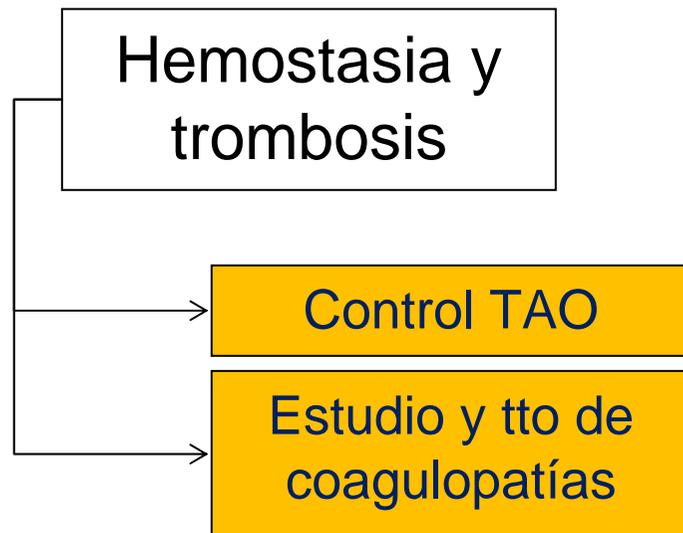
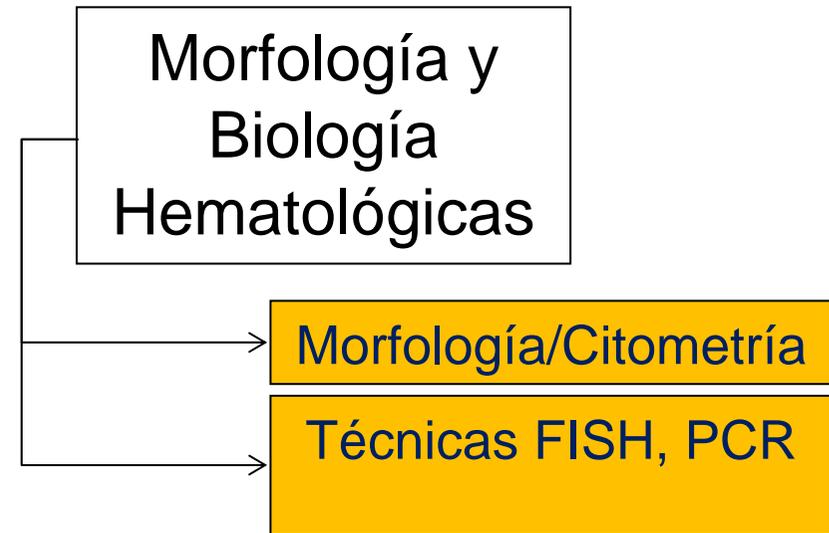
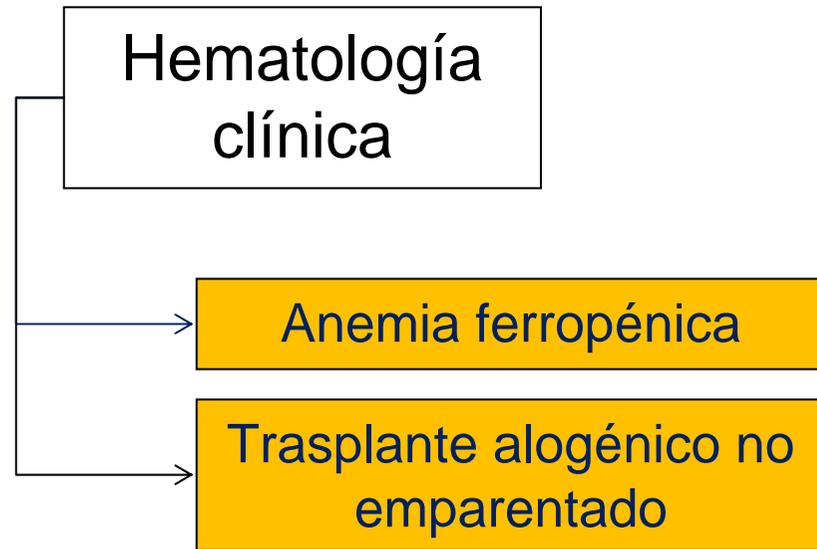
Hemostasia y  
trombosis

4 grandes  
áreas

Hematología  
clínica

Morfología y  
Biología  
Hematológicas





# TIPOS DE MUESTRAS

Tubo adecuado, conservación adecuada (Tª, tiempos, centrifugación, etc)

## Sangre periférica

- EDTA: hemograma, inmunohematología, fenotipo y PCR
- Citrato: coagulación
- Heparina: genética
- Tubo dedicado: VSG

**Médula ósea:** EDTA, heparina + extensiones

**Otros:** LCR, ganglio...

**Muestra capilar:** INR

# HEMOGRAMA



INSTRUMENTOS QUE SON CAPACES DE CONTAR Y MEDIR ELECTRÓNICAMENTE LOS ELEMENTOS SANGUINEOS CIRCULANTES: grandes: leucocitos ;y pequeños: hematíes y plaquetas.



# Hemograma

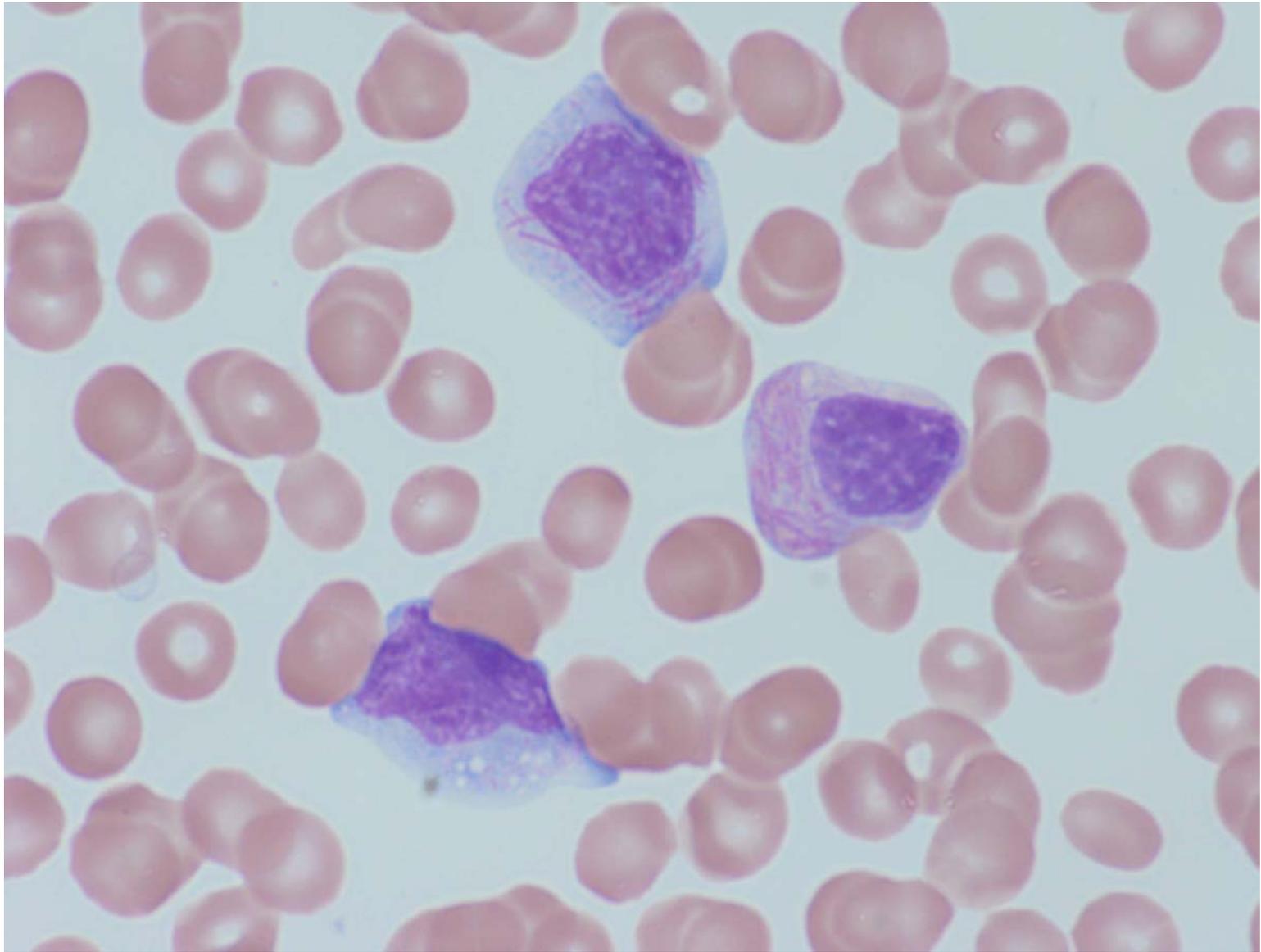
- Hb + VCM
- Reticulocitos / metabolismo Fe/  
haptoglobina/ Epo
- Electroforesis de Hb: talasemias, etc.



# Hemograma

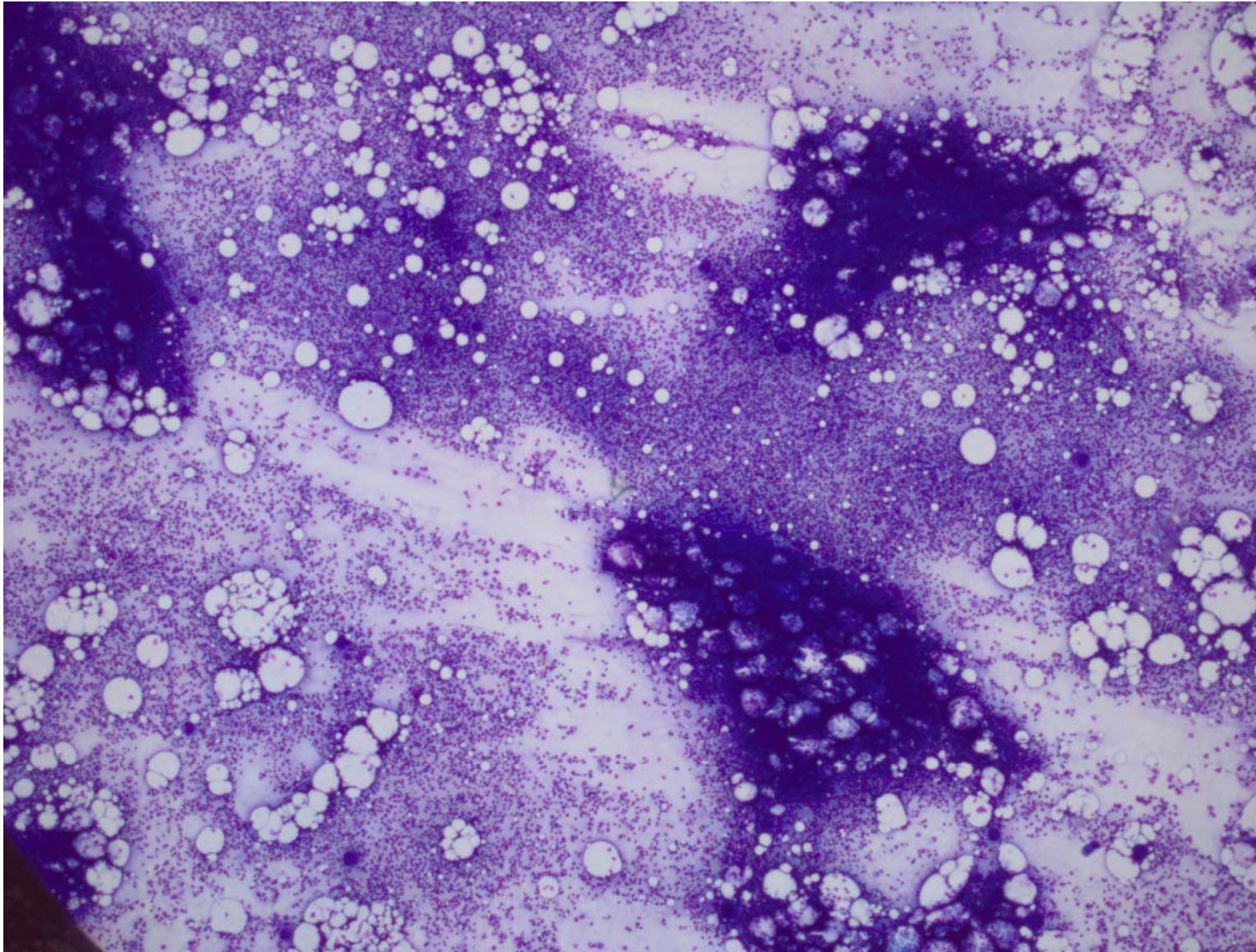
- Alteraciones cuantitativas:
  - Valores dependen de:
    - Edad
    - Sexo
    - Raza
- Otras alteraciones: hay que valorarlo en conjunto:
  - bicitopenia, pancitopenia,
  - trombocitosis (con anemia/ sin anemia),
  - LUC elevado sin anemia ni trombopenia, etc.
  - **En muchos casos, es de utilidad un frotis de sangre periférica.**

No repetir,  
preguntarse  
por qué y  
puede ser?

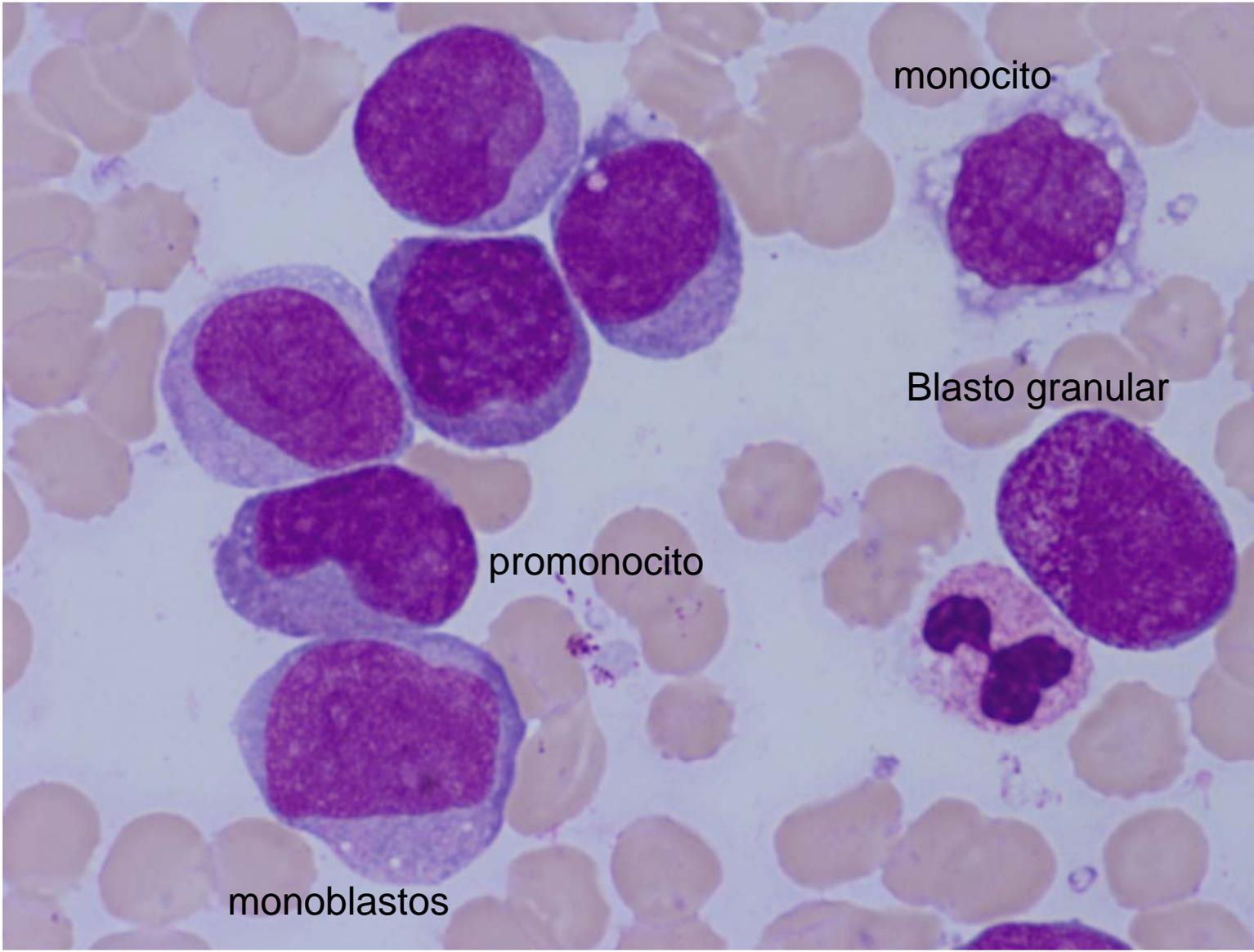


# MORFOLOGÍA- CITOMETRÍA-GENÉTICA





Médula hipercelular.

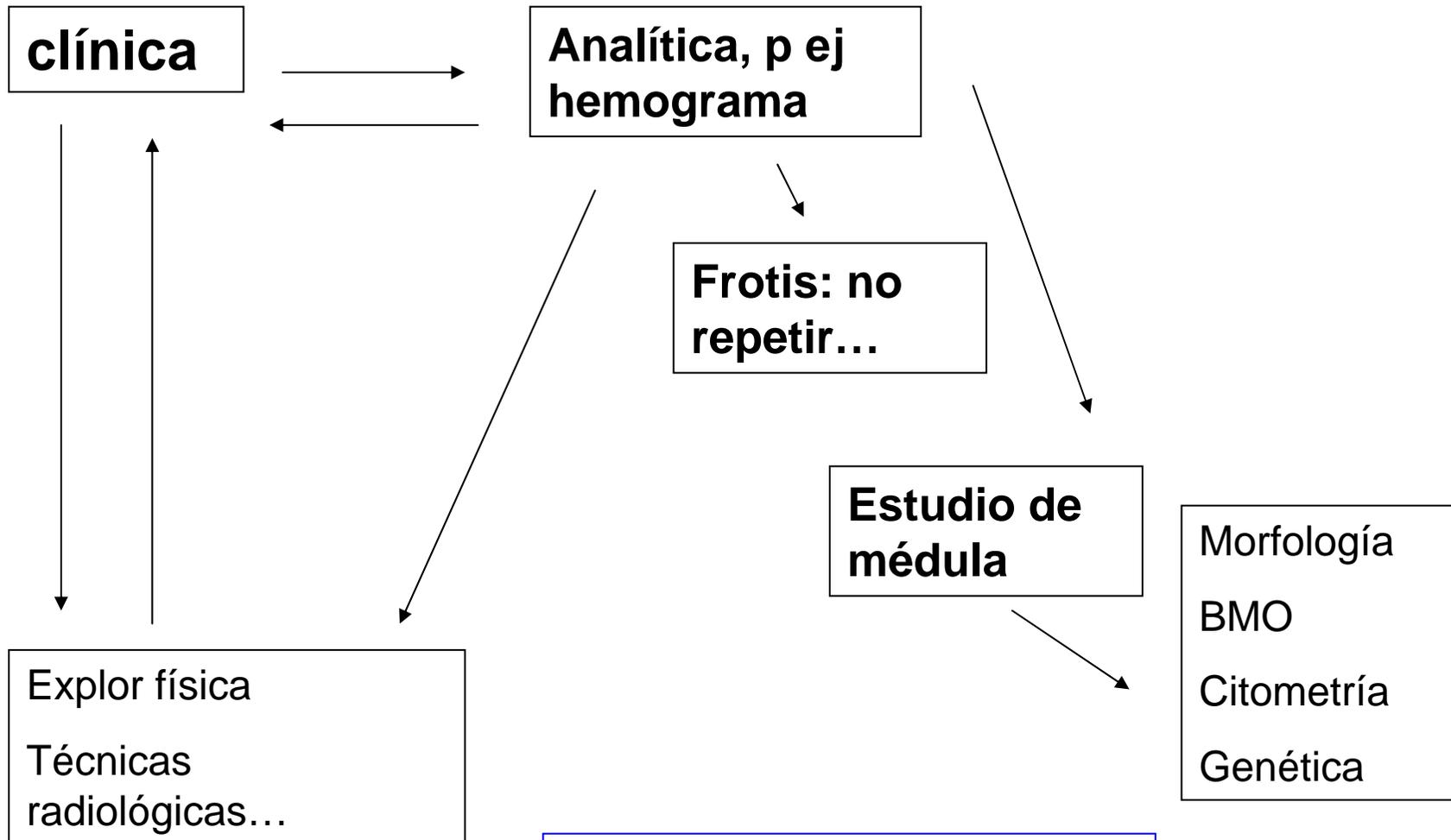


monocito

Blasto granular

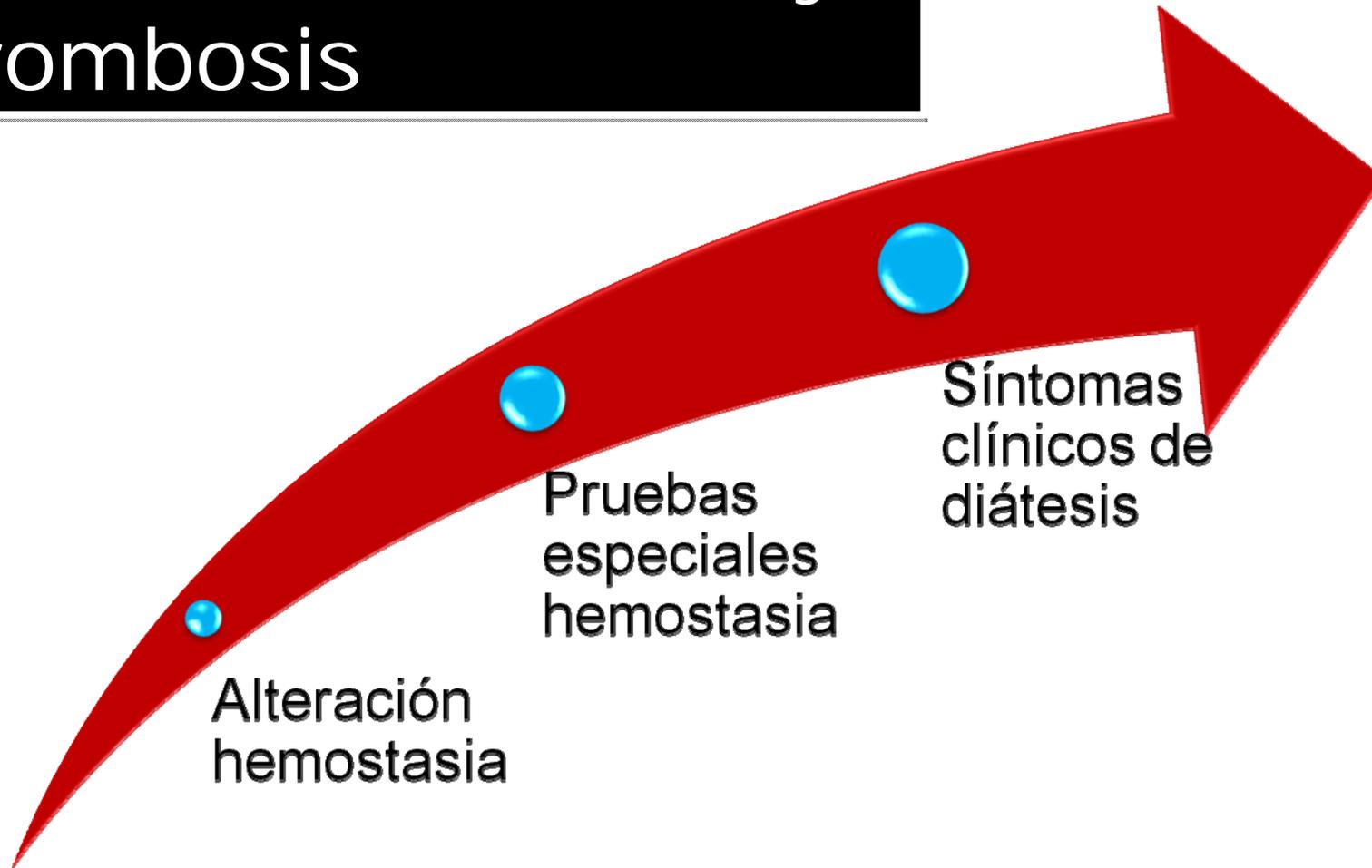
promonocito

monoblastos



**El paciente tiene que encajar en un diagnóstico**

# Unidad hemostasia y trombosis



Aplicable a todas las áreas. No dar resultados sin saber por qué...

# Laboratorio de hemostasia y trombosis

- **Diátesis hemorrágica**
  - **Estudios de coagulación preoperatorio** (TP, APTT, fibrinógeno, TT, dímeros)
  - **Hemostasia primaria:** agregación, PFA
  - **Hemostasia secundaria:** Factores (hemofilia, E v Willebrand...)

- **Anticoagulación**
  - HNF: APTT...
  - HBPM: antiX
  - INR: Sintrom (capilar y coagulómetro)
- **Trombofilia**
  - Anticoagulante lúpico
  - Prot C, Prot S, ATIII
  - mutaciones

**Diagnóstico – seguimiento- clínica**



ACL Futura Plus



ACL Top





# Servicio de transfusión

- Inmunohematología:
  - Prueba cruzada
  - Coombs
  - Estudios fetomaternales
  - Depósito/ banco de sangre
- Terapia celular: aféresis, trasplante, etc.



**WADiana**  
**Banco de Sangre**



**DianaGel Centrifuga**  
**Banco de Sangre**



**DianaGel Incubador**  
**Banco de Sangre**

Trasplante de médula ósea



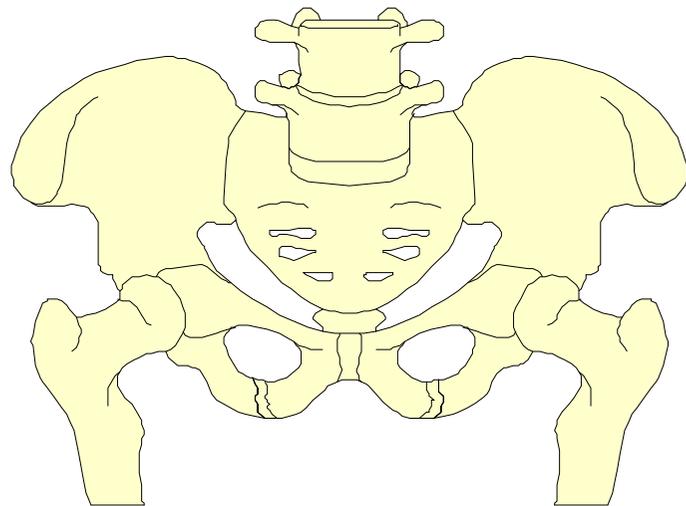
Trasplante de  
progenitores  
hematopoyéticos (TPH)



Células madre hematopoyéticas

# La médula ósea y las células madre

*La médula ósea es el tejido esponjoso que se encuentra en el interior de los huesos. Aquí se originan las células madre o progenitores hematopóyeticos a partir de los cuales se generan las células sanguíneas durante toda la vida.*

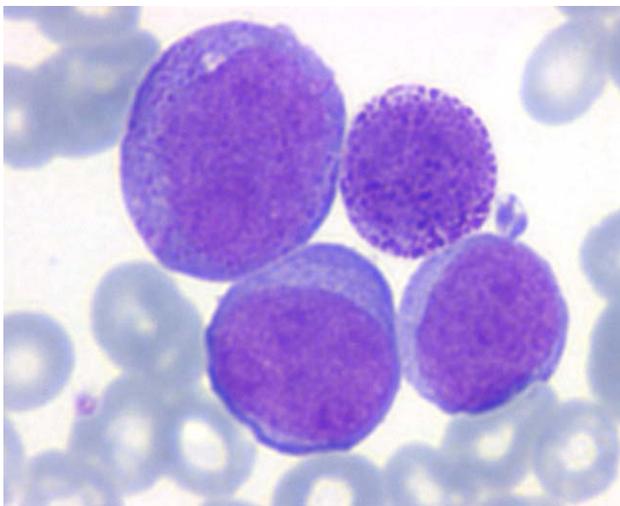


**También en :**

**Cordón umbilical**

**Sangre periférica:** mínimas cantidades

# ¿Cómo las reconocemos?



Citometría de flujo



- Se identifican con el Anticuerpo **CD 34**
- Para asegurar un “injerto” necesitamos, al menos 2 millones /Kg paciente

# BREVE HISTORIA DEL TRASPLANTE

- **1891, Brown-Sequard CE: m.o. v.o. para tratar anemias.**
- **1909, Maximow:** migración en SP de los PH.
- **1939,** experimentos de **Osgood** (m.o. i.v. en anemia aplásica) y **Rekers** (en animales irradiados).
- **1949, Jacobson y Lorenz.**
- **1955-1959:**
- **Ford, Russell:** demostración del quimerismo hemopoyético; alo-TMO en animales.
- **1957, Thomas, ED: 1º alo-TMO en humanos.**
- **Dausset:** importancia del sistema humano de histocompatibilidad.
- **Kürnick, Mathé:** 1º auto-TMO; TMO en expuestos a radiaciones.

- **1961, Till y MacCulloch:** reconstitución hemopoyética a partir de UFC-S de ratón.
- **1968, Mathé :** 1º alo-TMO HLA idéntico.
- **1976, 1º alo-TMO en España.**
- **1977, Fliedner:** reconstitución de la m.o. con células criopreservadas.
- **1978, Goldman:** infusión de granulócitos en LMC. Creación del EBMT.
- **1985, Korbling y Juttner :** 1º auto-TPH con SP.
- **1987, Slavin:** ILD.
- **1988, Kessinger:** 1º alo-TPH SP; **Gluckman:** 1º TPH con SCU.
- **1990. P. Nobel Prof. ED Thomas.**

# ¿en qué consiste el TPH?

- Sustituir el tejido hematopoyético insuficiente , defectuoso o tumoral por uno sano.
- Permite administrar tratamientos antineoplásicos a dosis mieloablativas: Curación de ciertas hemopatías malignas.
- Y, en el TPH alogénico el injerto del donante puede ejercer un efecto inmunológico antitumoral

# Tipos de TPH

Según la procedencia de las células madre hematopoyéticas

- De médula ósea
- De sangre periférica
- De cordón umbilical

**¿cómo las obtenemos?**

La intención siempre es la misma:  
infundir células madre  
hematopoyéticas



## Obtención de médula ósea

Punciones múltiples en ambas crestas ilíacas posteriores (100-200) para obtener 1.5-2l de mo: se obtienen aprox 1.5-2 millones CD34+





# Médula Ósea

## Ventajas

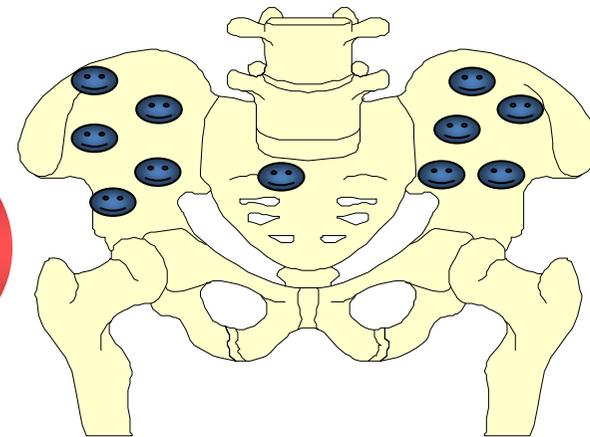
- 1) No precisa medicación previa

## Inconvenientes

- 1) Requiere de ingreso hospitalario
- 2) Bajo anestesia. En quirófano
- 3) Posible dolor durante 2-15 días de la zona de punción
- 4) Bajada de los niveles de hematíes
- 5) Recuperación más lenta de aplasia

# Células madre en SANGRE PERIFÉRICA

Factor de crecimiento



Tratamiento previo, aféresis

Sin ingreso hospitalario

# MOVILIZACION



- Consiste en hacer “salir “ a sangre las células madre, que normalmente están en la médula ósea.
- Administración sc de factores de crecimiento durante 3 días y realizar AFERESIS a partir del 4º día.

# INICIO Y NÚMERO DE AFÉRESIS

## Análisis en el 4º día.

si CD34/ul. en SP  $>5/ul$  se realiza aféresis.

- Condicionantes: edad, tiempo desde dx, afectación medular, tipo QT y RT previas
- Se realizan el número de procedimientos necesarios hasta obtener ese valor mínimo. A veces interesa tener reserva por si necesario en futuro (hasta 6 millones y linfocitos de donante hasta 10 veces más que mo...)
- Si no se logra recoger: postquimio o Plerixafor

# Obtención progenitores sangre periférica: aféresis



Si es un paciente se coloca un catéter central, pues suelen ser necesarias más de 2 sesiones, y suelen tener los accesos venosos inutilizables





**Volemia procesada: 2-3 volemias (10-15 l. en 3-4 horas)**

# Efectos adversos

- leves: mareos, hipotensión, vómitos
- Parestesias: hipocalcemia por infusión de citrato
- relacionados con CVC: infección, trombos, neumotórax (0.98%)...
- trombopenia (baja un 30%) y, a veces neutropenia transitorias. Tras 2 procesos puede ser  $<100000$  plaq y se normaliza en 5-7 días
- otros: arritmias, hemólisis...

# Sangre periférica

## Ventajas

- 1) Método menos agresivo para el donante
- 2) Obtención de un n° mayor de células madre
- 3) El paciente se recupera más rápidamente

Menos contaminado con cels tumorales

## Inconvenientes

- 1) Necesidad de administrar G-CSF al donante
- 2) Puede requerir catéter venoso
- 3) Mayor riesgo de EICH crónico (más linfocitos)

# TRASPLANTES A PARTIR DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

## CRONOLOGÍA



- 1988 – primer TSCU: hermanos
- 1993 – creación en Nueva York del primer banco público de unidades de sangre de cordón umbilical para TPH no emparentado.

# TRASPLANTE A PARTIR DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

## VENTAJAS

- . FACILIDAD DE OBTENCIÓN
- . FÁCIL DISPONIBILIDAD
- . MENOS RECHAZO



## INCONVENIENTES

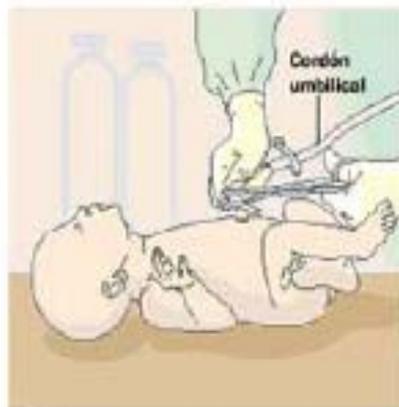
- . MENOS CÉLULAS MADRE
- . IMPOSIBILIDAD DE SEGUNDA DONACIÓN

Recuperación más lenta: más infecciones. Escaso EICH



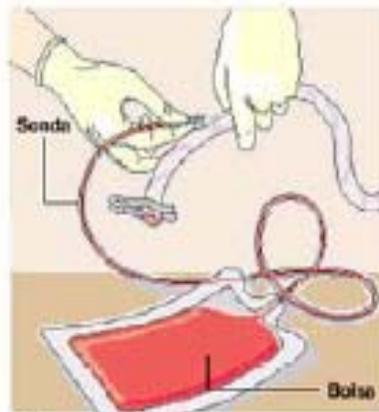
Punción de la vena umbilical inmediatamente postparto. Se obtienen 70-120ml de sangre con aprox 0.5 millón de CD34+, pero son PH muy inmaduros y menos linfocitos





### 1 FARTO

Luego del parto se aplican dos grampas al cordón umbilical y se evita entre ellas para separar al bebé.



### 2 RECCELECCION

Se inserta una sonda en el cordón y la sangre es recolectada en una bolsa con un anticoagulante. Luego se envía al laboratorio.



### 3 PROCESAMIENTO

Se controla que la muestra esté libre de virus y bacterias. Se cuentan las células vivas y se descartan los glóbulos rojos y el plasma.

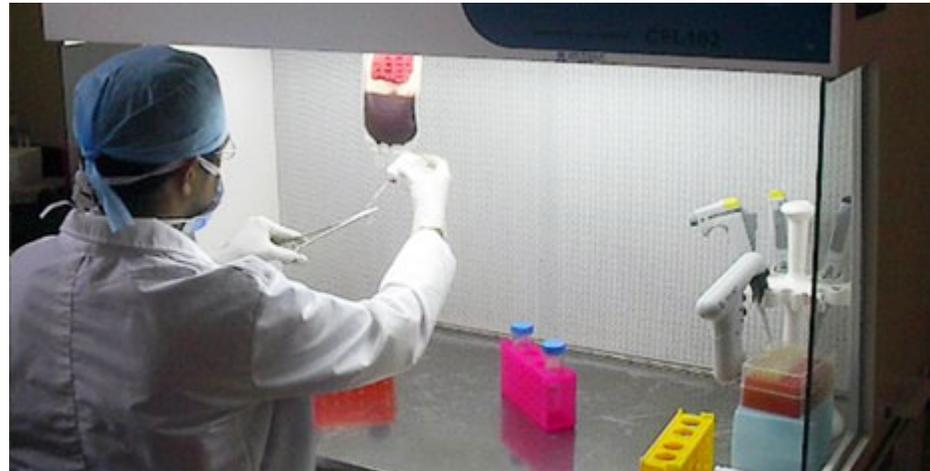


### 4 ALMACENAMIENTO

Se envasa con un líquido crioprotector y se enfría paulativamente hasta  $-90^{\circ}\text{C}$  y luego se conserva en nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ .

Gráfico del Equipo de Coordinación de Trasplantes del Hospital General de Almería

# CRIOPRESERVACIÓN Y CONGELACIÓN.

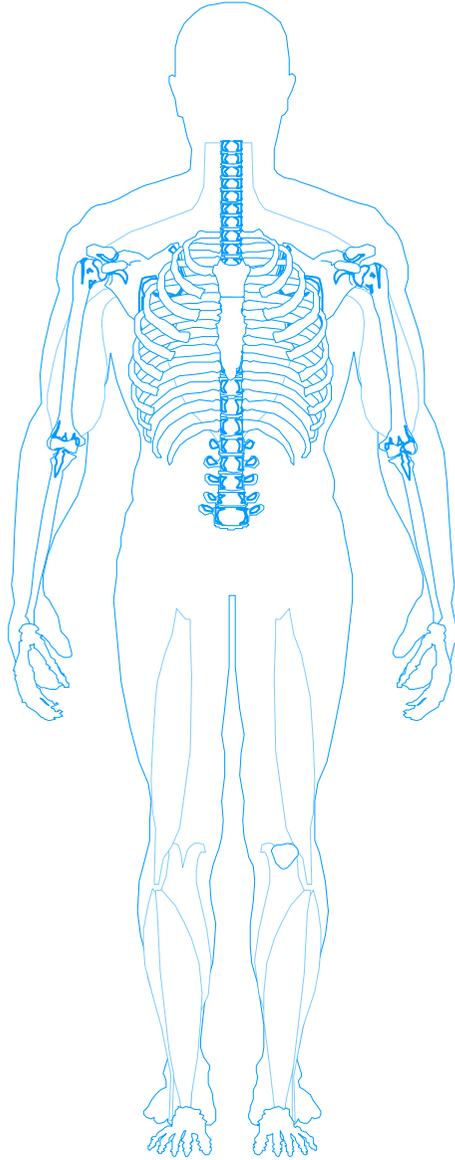


Cuando se recogen las células, se preparan en bolsas especiales para congelación, con sustancias que las protegen del frío (DMSO), y se congelan a muy bajas temperaturas.

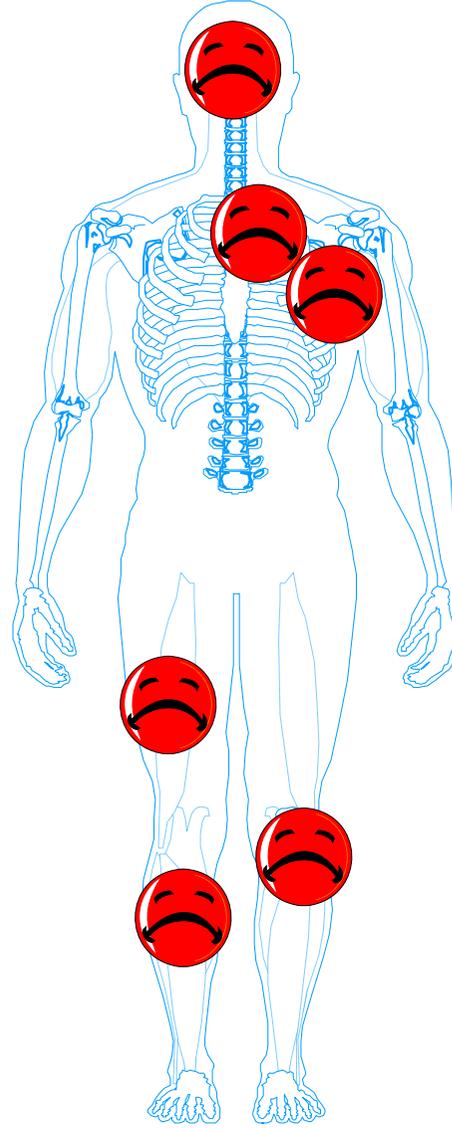
# CRIOPRESERVACION:

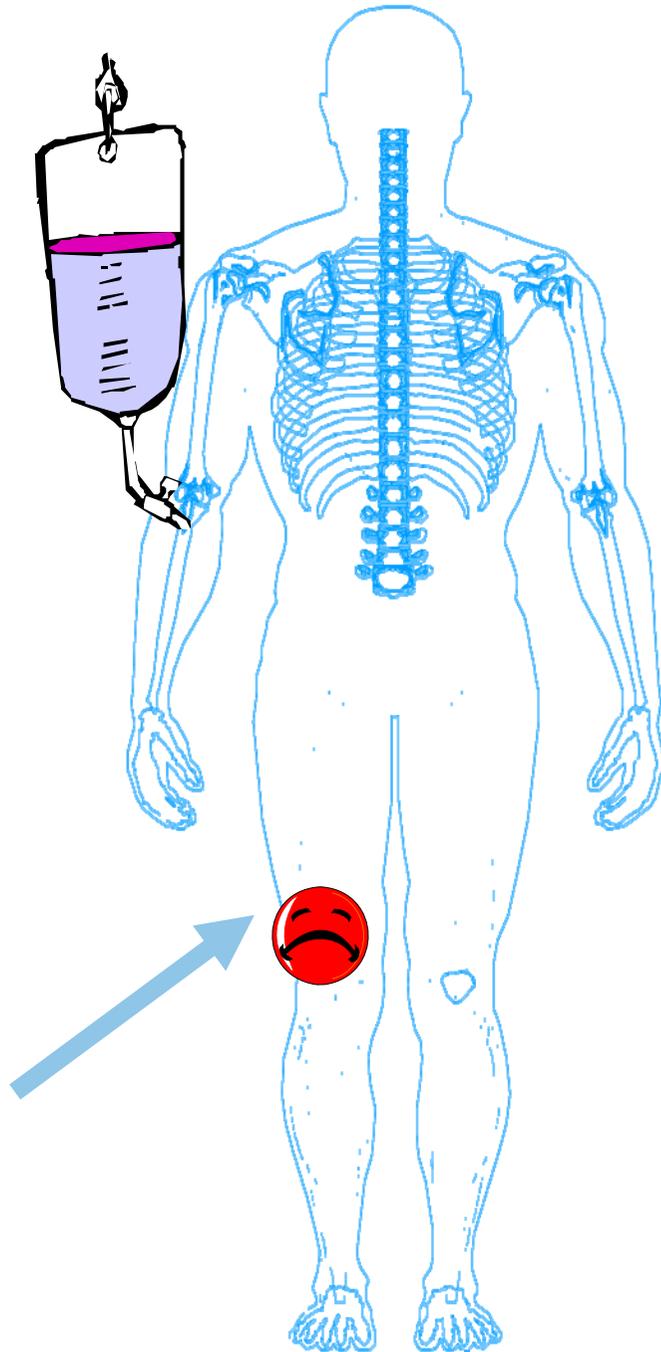
- <6 meses: baño de alcohol en  $-80^{\circ}\text{C}$
- >6 meses: Nitrógeno líquido ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) o en fase gaseosa ( $-156^{\circ}\text{C}$ )
- Estas temperaturas deben alcanzarse de forma progresiva. Por ello se mete el producto en baño de metanol y, de aquí a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Después se traslada simplemente. La congelación también puede ser controlada, y, aunque mejor, necesita de material y experiencia

## Individuo sano

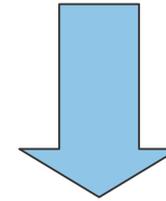


## Individuo con leucemia

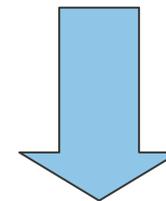




**Quimioterapia y/o  
radioterapia**



**Remisión**



**Curación?**

# INDICACIONES ACTUALES

- **TPH AUTOLOGO** preferente (estándar)
  - Linfoma No Hodgkin: agresivo
  - LNH indolente: 2ª RC, recaída QS, transformación.
  - Hodgkin: recaída precoz o tardía; RP.
  - Mieloma Múltiple, enfermedades AI, tumor de clas.germinales
- **TPH ALOGENICO**
  - Leucemias agudas
  - SMD.
  - Aplasia medular grave
  - otras

# Tipos de TPH

Según el donante de las células madre

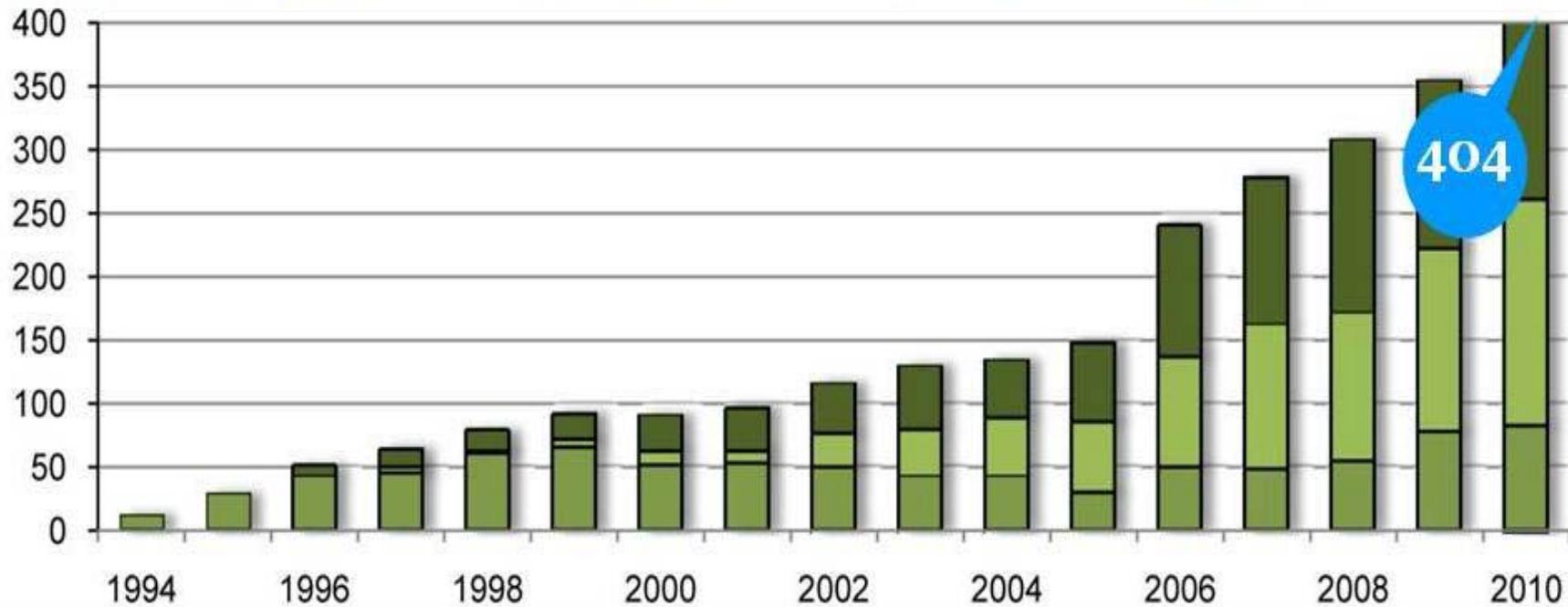
- **Autólogo:** el propio paciente
- **Alogénico:**
  - Un familiar
    - Donante HLA idéntico (hermano)
    - Donante familiar no HLA idéntico (hermano, padres...)
  - Donante no emparentado

# Tipos de TPH España 2008

	Médula	Sangre	Cordón
<b>Auto</b>	<b>0.9 %</b>	<b>99.1 %</b>	
<b>Alo emparentado</b>	<b>15.2 %</b>	<b>84.2 %</b>	<b>0.6 %</b>
<b>Alo DNE</b>	<b>18.7 %</b>	<b>38.2 %</b>	<b>43 %</b>

Pero esto no fue siempre así

## Evolución de los trasplantes de progenitores hematopoyéticos (médula ósea, sangre periférica, sangre de cordón umbilical) no emparentados en España



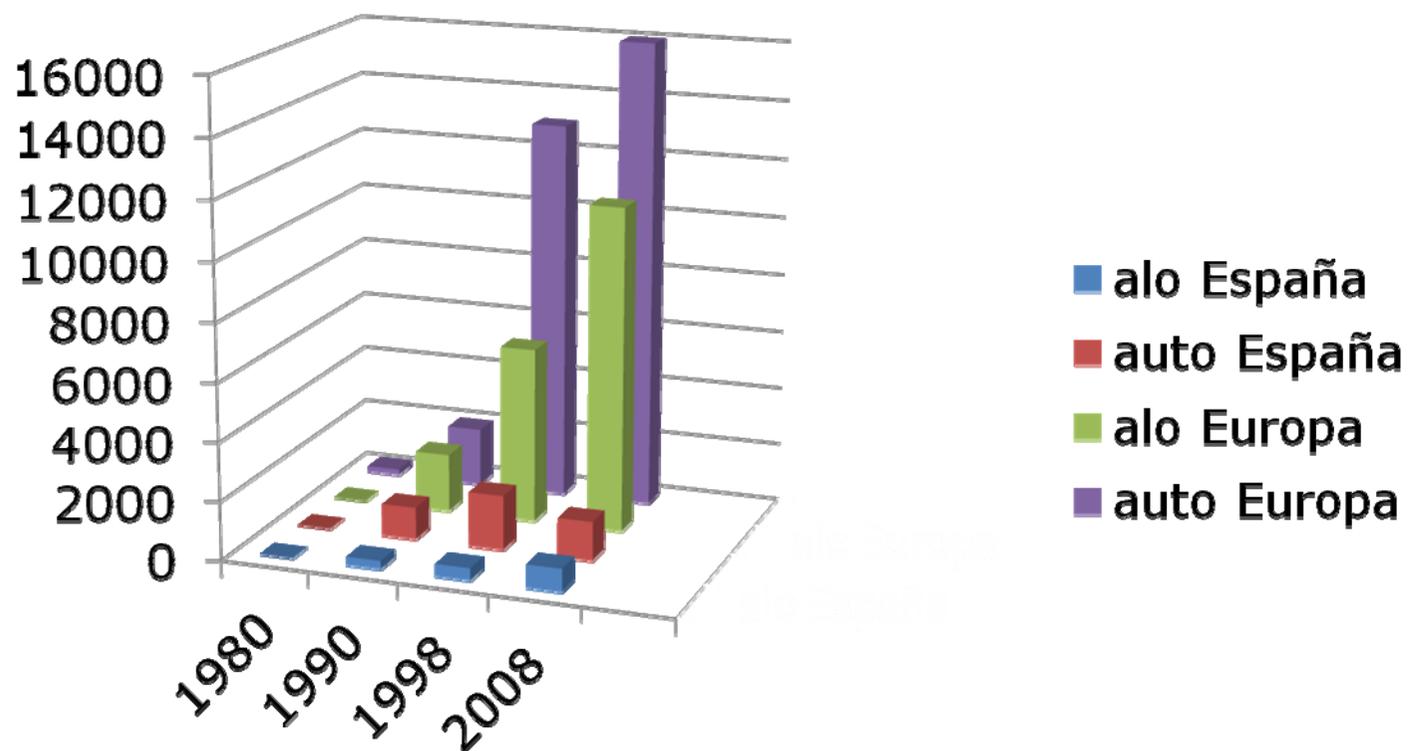
**Trasplantes realizados durante 2010: 404**

■ SCU (n= 142)

■ SP (n= 179)

■ MO (n= 83)

# TPH en Europa



# TPH

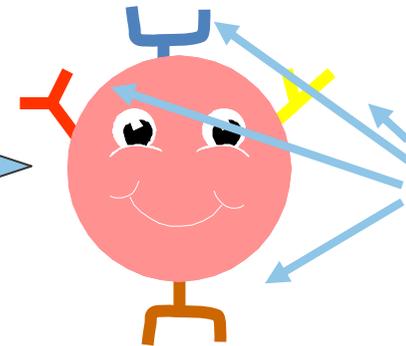
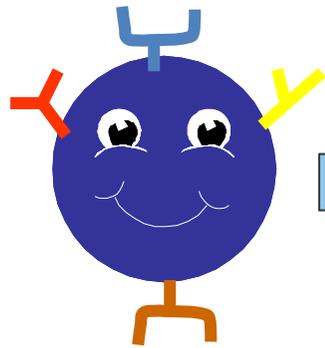
- **Autólogo:** permite tratamiento antineoplásico a dosis muy elevada (soporte toxicidad).
- **Alogénico:** sustituye la hematopoyesis alterada por una hematopoyesis sana;
  - **efecto antitumoral del injerto.**

# Mecanismos de defensa del organismo

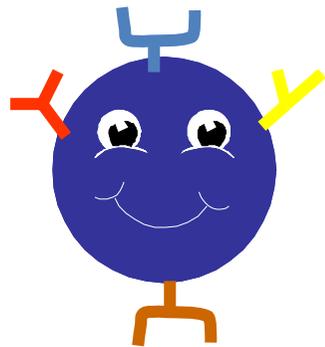
## - Sistema Immunitario -

**Linfocitos T**

**Células propias**



**OK**  
**antígenos**  
**HLA**

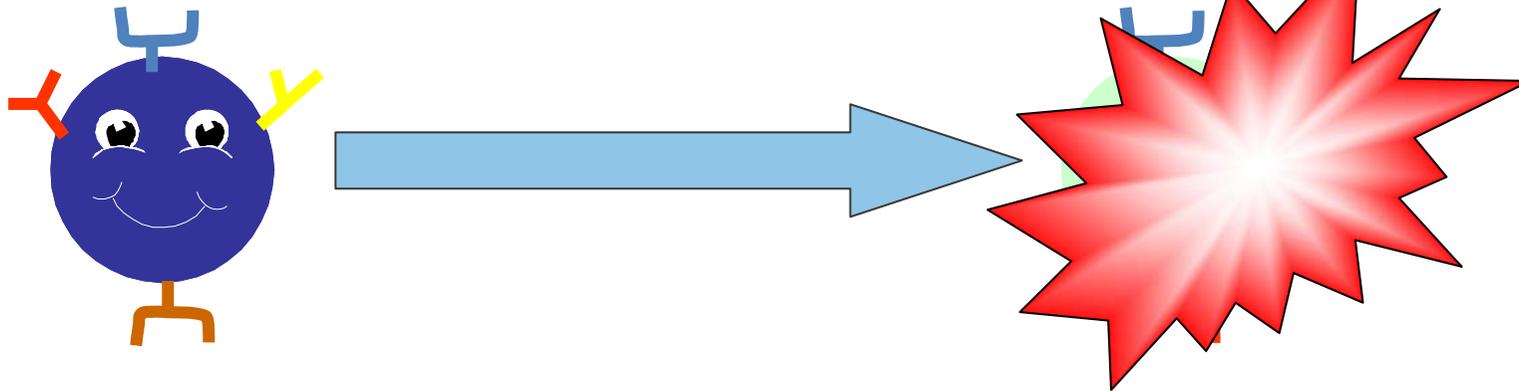


**Células**  
**extrañas**

# Sistema inmunitario en el trasplante hematopoyético

**Linfocitos T del donante**

**Células del paciente**

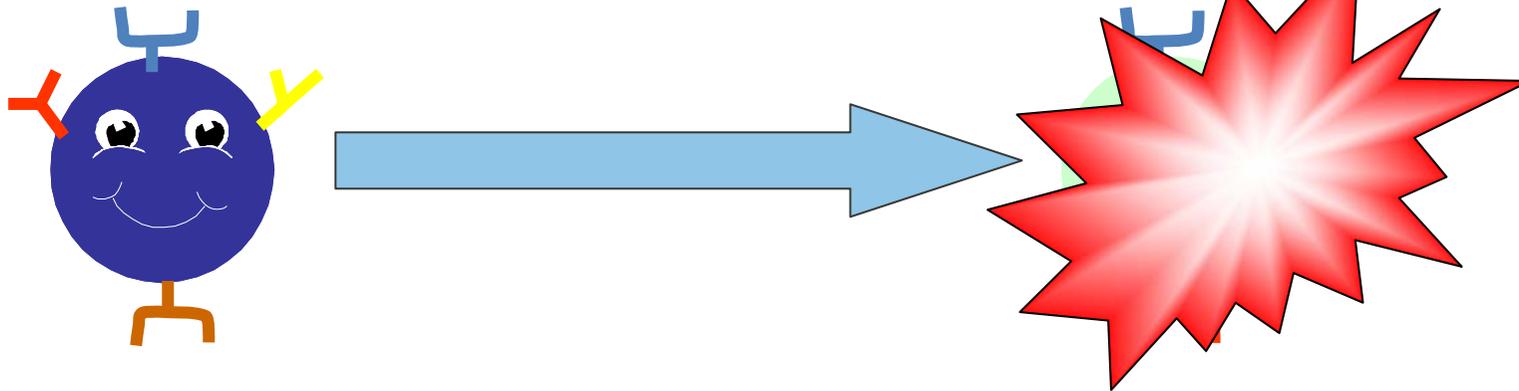


**Enfermedad injerto contra huésped:  
EICH (piel, hígado, digestivo)**

# Sistema inmunitario en el trasplante hematopoyético

**Linfocitos T  
del donante**

**Células  
leucémicas**



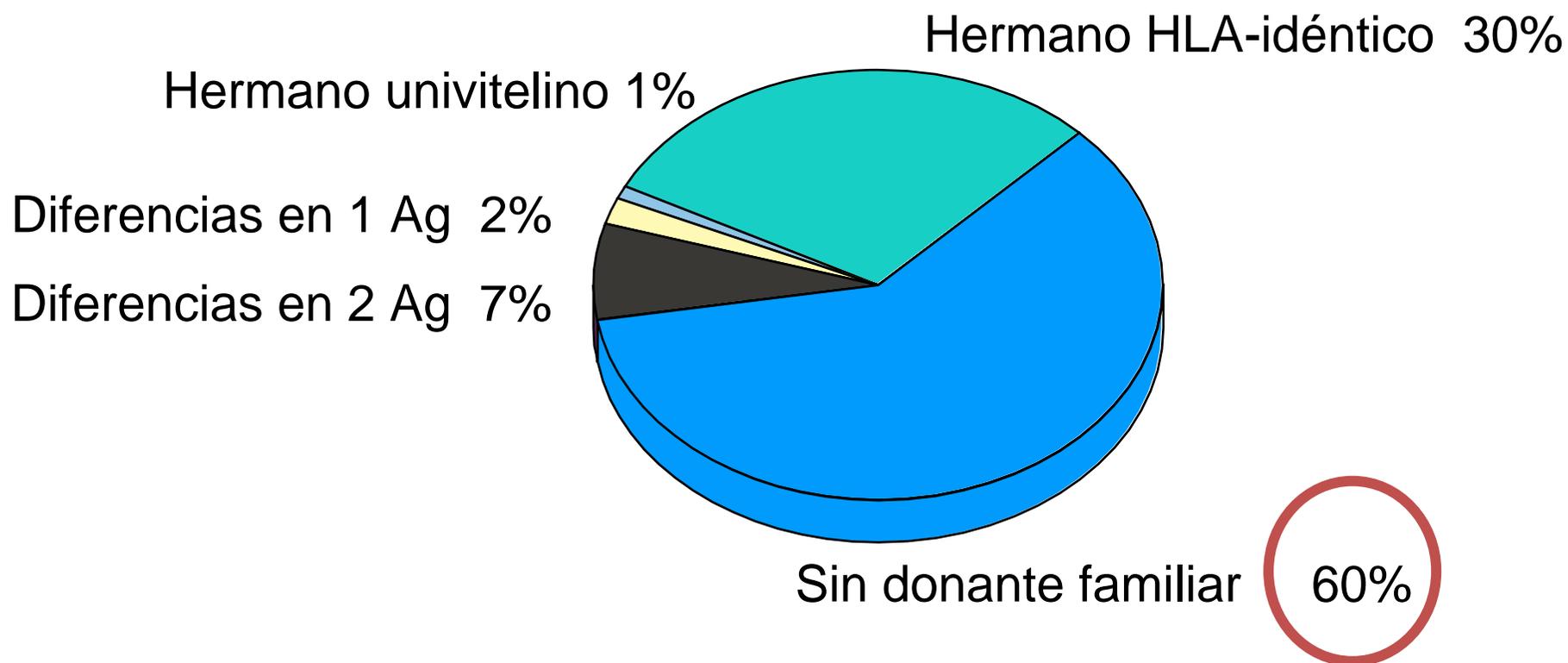
**Efecto injerto contra tumor**

**EICH grado III-IV tiene alta tasa de mortalidad**



- **Debe existir MÁXIMA IDENTIDAD ENTRE DONANTE Y RECEPTOR**
- **Sistema mayor de histocompatibilidad: HLA**

# Donante familiar histocompatible



>60% pacientes con leucemia no se podrían trasplantar

# PROGRAMA INTERNACIONAL DE TRASPLANTES DE P.H. NO EMPARENTADO



**OBJETIVOS** : Proporcionar PH a pacientes que no disponen de familiares compatibles

**REQUISITOS** : Disponer de un gran número de personas voluntarias tipificadas, fácilmente localizables y disponibles

**CANALIZACIÓN** : Creación de "Registros"

# LOS REGISTROS INTERNACIONALES

1984



1986



1988



1991



# REDMO

Creado en el año 1991

## OBJETIVOS Y ACTIVIDADES

Promoción, captación y tipificación de donantes



Búsqueda de donantes compatibles

Coordinación de la extracción, transporte y trasplante de los progenitores localizados



Servicio de información



# SISTEMÁTICA DE UNA BÚSQUEDA

**Recepción y verificación de la  
petición de inicio de búsqueda**

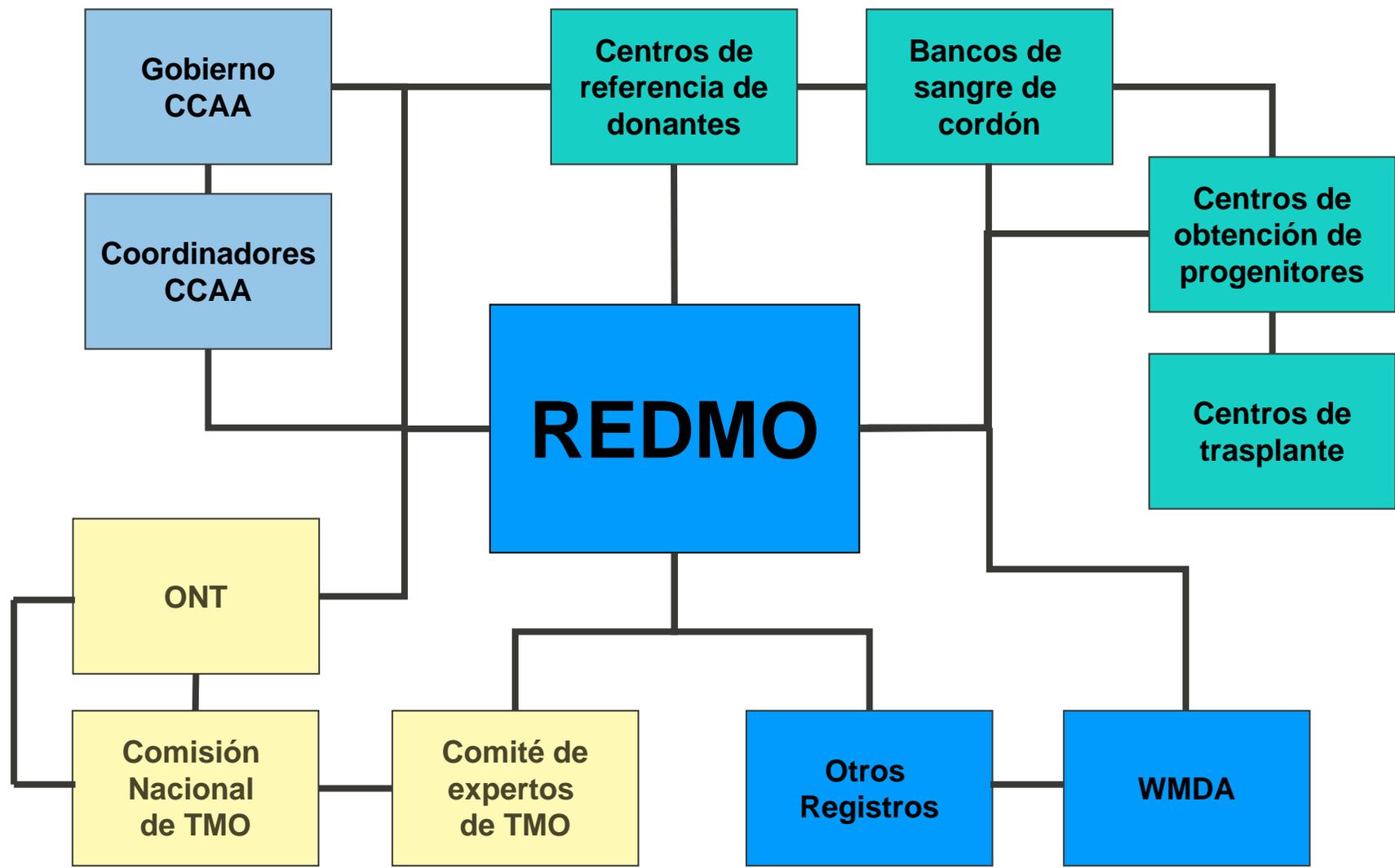


**Introducción de datos al PC**

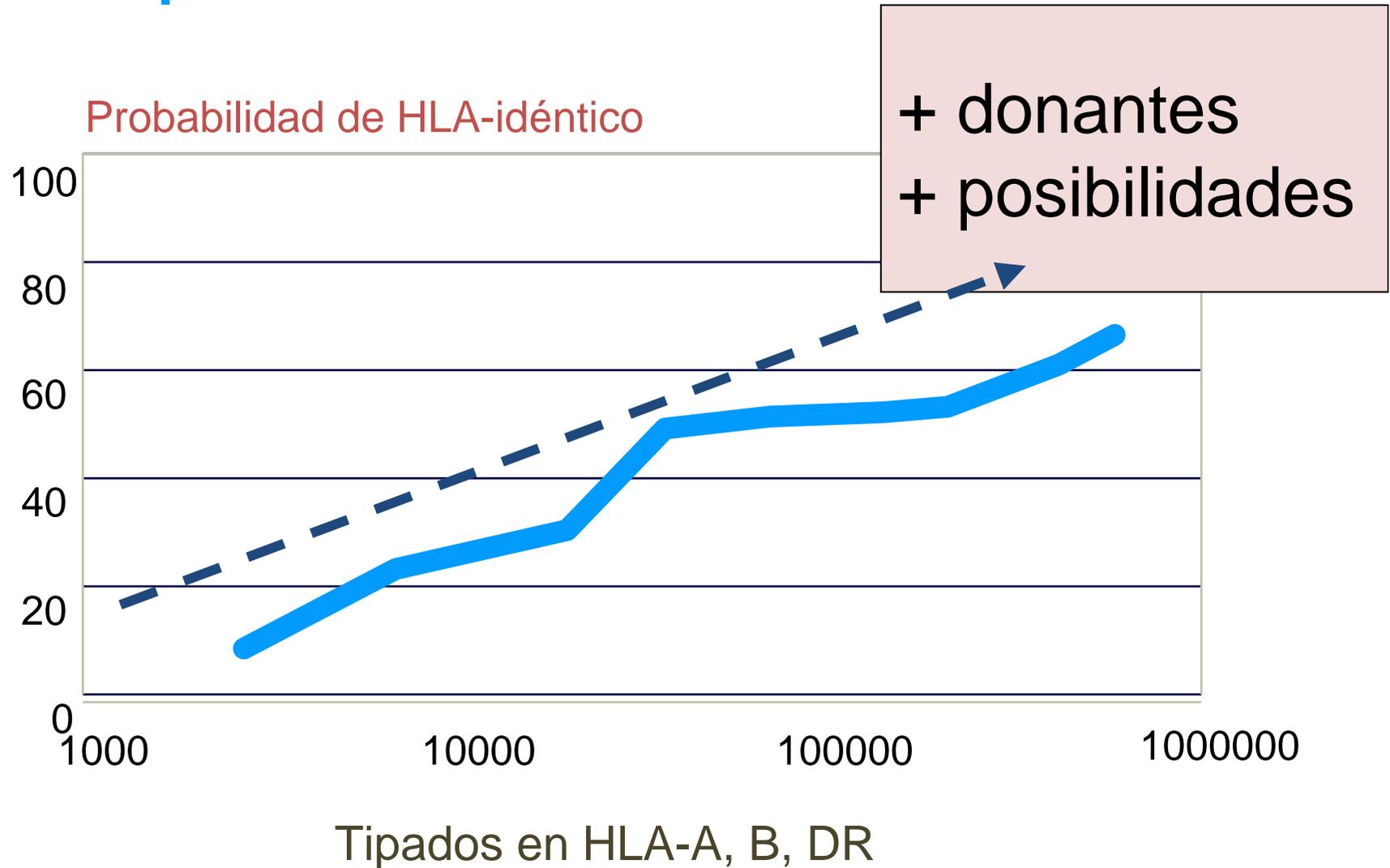


**Algoritmo automático de  
búsqueda (donantes REDMO) +  
Inicio búsqueda en todos los  
Registros Internacionales**



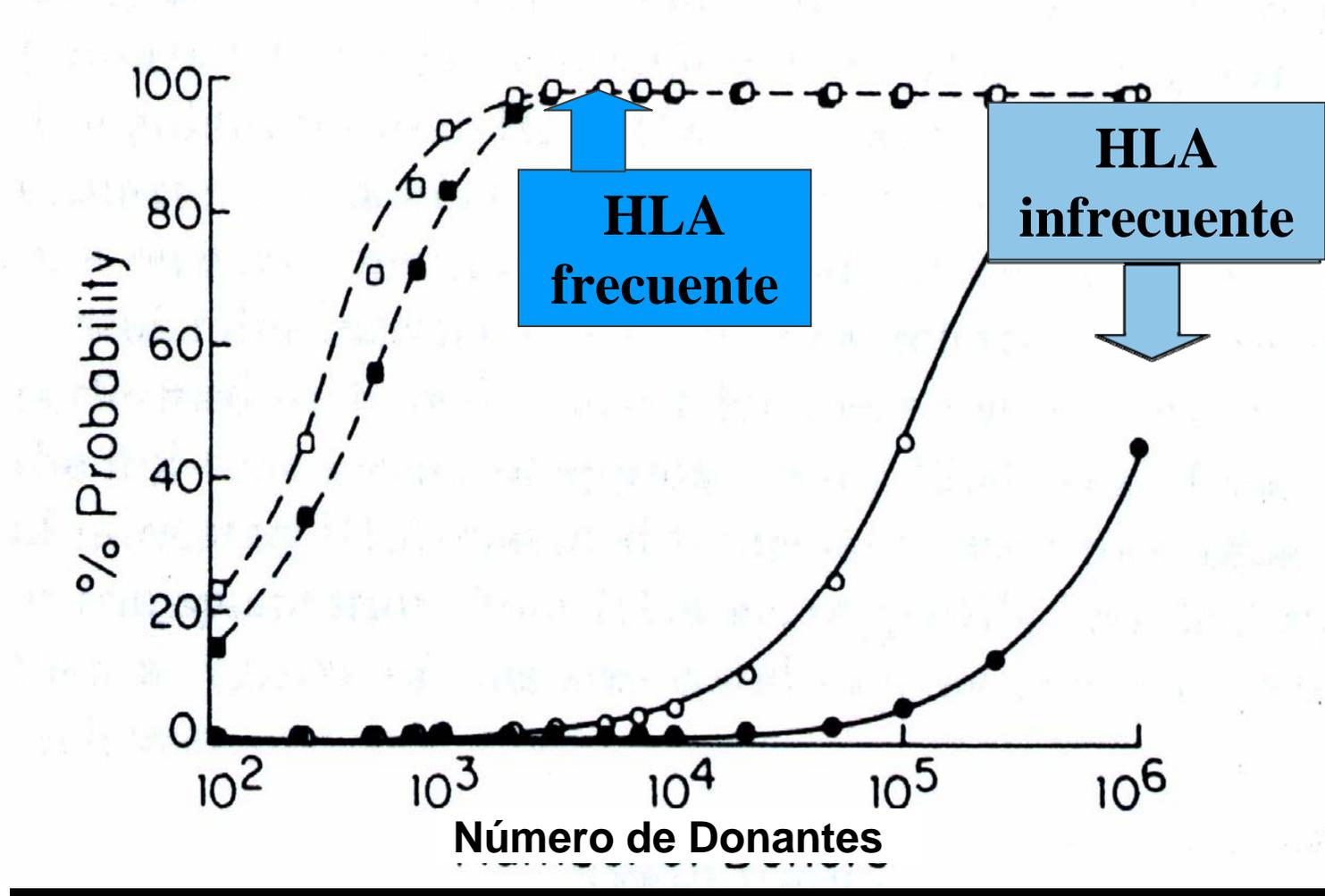


# Probabilidad de encontrar un donante compatible



# POR QUÉ SE NECESITAN (muchos) DONANTES DE MÉDULA?

## Probabilidad de donante según HLA

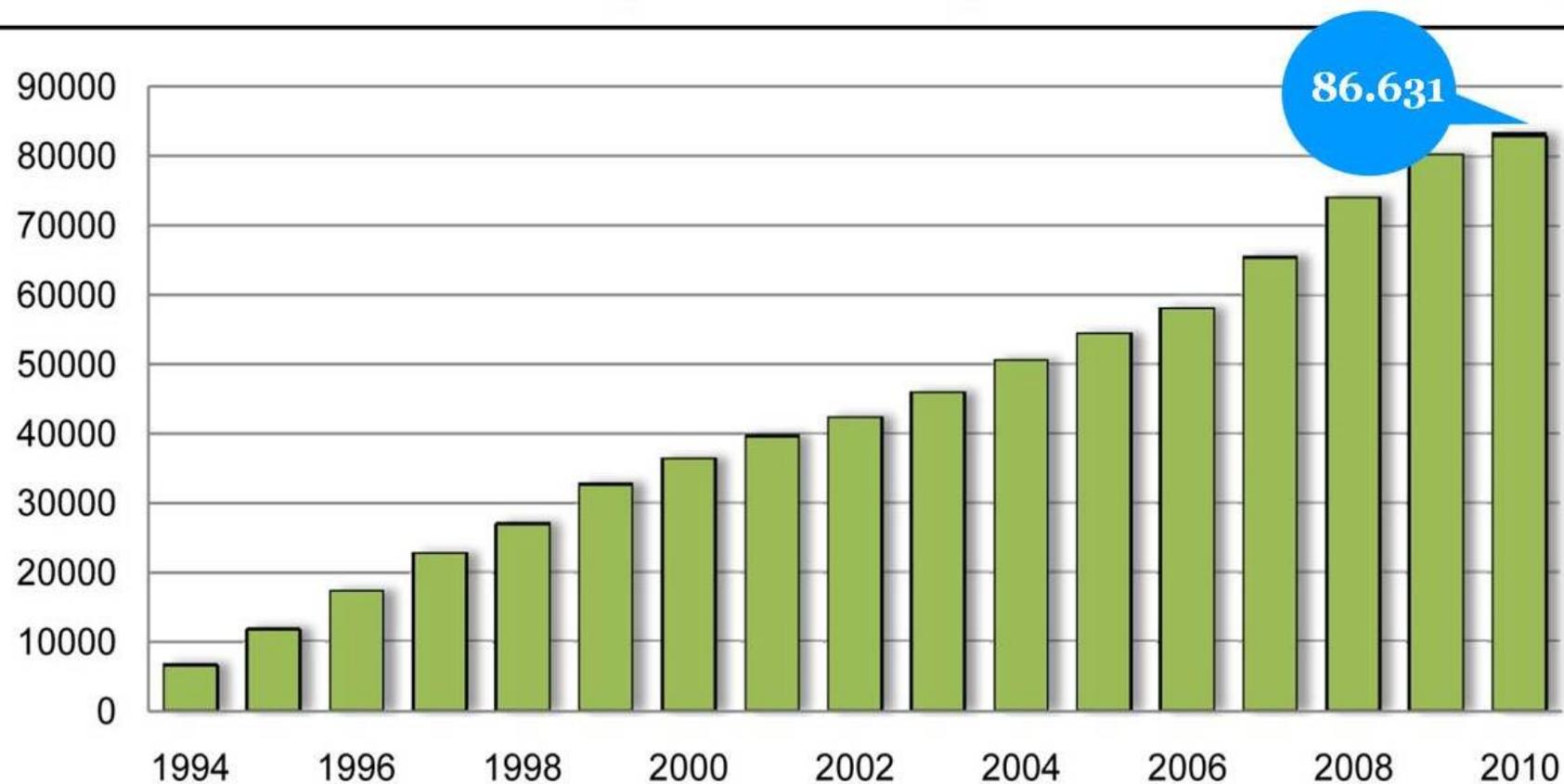


---

## Donantes de médula ósea tipificados en España

---

▲ 8%



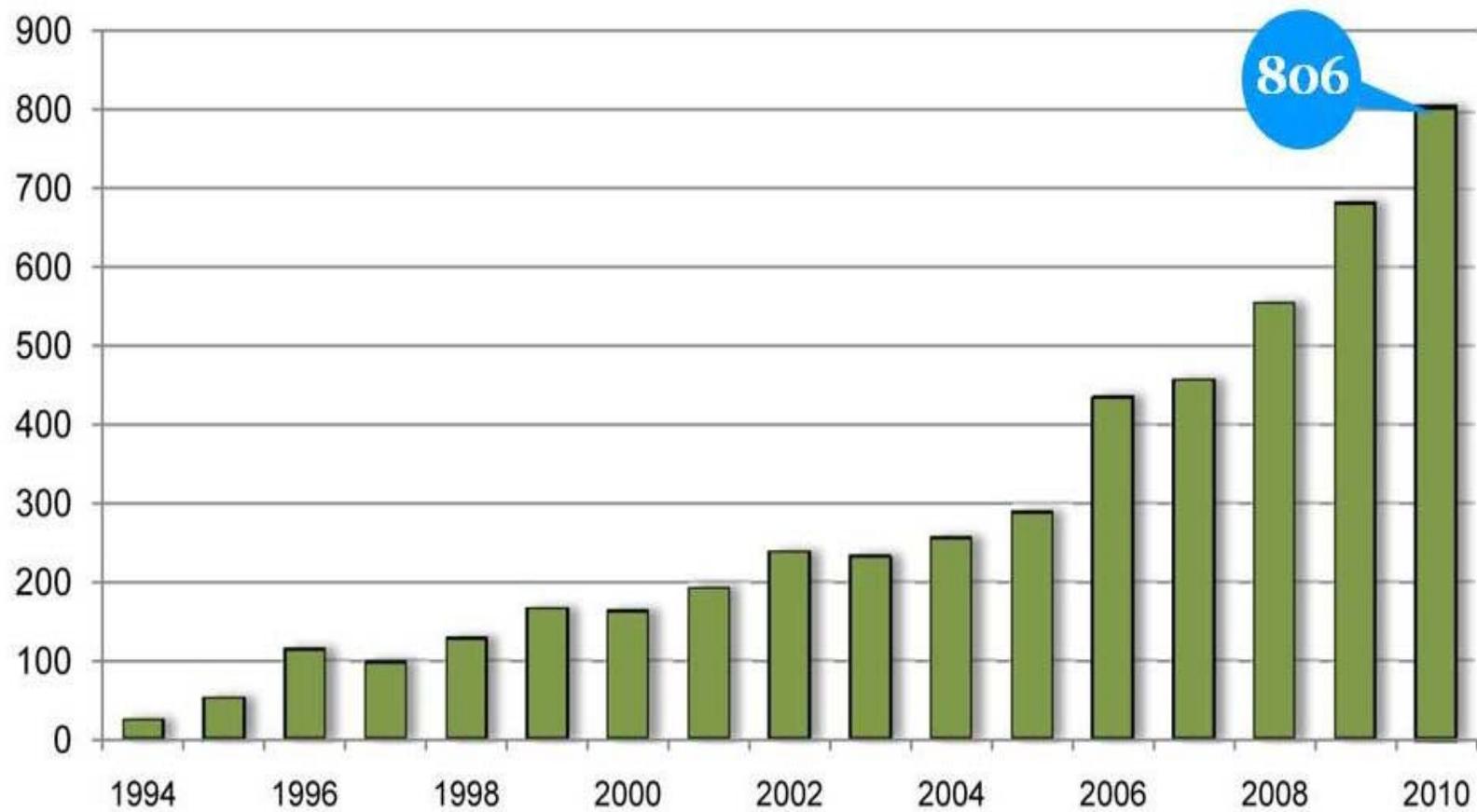
---

Donantes de médula ósea registrados en España durante 2010: 8.175

---

## Evolución del número de donantes localizados

**Donantes localizados en 2010: 806**



# Etapas del trasplante

## 1. Acondicionamiento: cuenta atrás: 1 semana

- **Mieloablativo:**
  - elimina células tumorales y sanas.
  - Crea espacio para que quepa el trasplante e
  - inmunodeprime paciente para evitar rechazo del injerto
- **Intensidad reducida:**
  - permite trasplantar pacientes de más edad que no soportarían QT altas dosis. Inmunosupresión intensa que permite que se implante médula sana

## 2. Obtención de precursores-congelación-descongelación



Baño con agua a 37° y una vez descongeladas y preparadas, son transfundidas por vía intravenosa. Si DMSO, tenemos sólo 15 minutos.

Usar catéter

### 3. INFUSION PROGENITORES: día 0



Premedicar: Volemia + dmsos + células y enzimas celulares + frío pueden causar fiebre, taquicardia, hipotensión y reacciones alérgicas

A partir de ese momento lo que falta es que las células vuelvan al interior de los huesos y asuman la producción de sangre.

#### 4. **Aplasia:** 10-15 días: complicaciones.

En los días siguientes, y debido a la caída del número de leucocitos, plaquetas y glóbulos rojos, puede producirse fiebre y serán necesarias transfusiones.

## 5. Recuperación hematológica:

- leucos 1º en injertar .
- EICH...

## 6. Reconstitución inmune: 6 meses : EICH crónica, infecciones tardías

# Donantes voluntarios

**Donantes**  
**13.782.468**  
**(27-10-09)**

**Donantes**  
**x 1000**  
**habitantes**

Chipre	136.4
Israel	56.8
Alemania	40.8
USA	17.3
UK	12.5
Portugal	12.4
Taiwán	12.1
Hong Kong	9.4
Australia	8.9
Austria	7.4
Canadá	7.2
Italia	5.5
Bélgica	4.6
Suecia	4.5
Suiza	2.9
Francia	2.7
Japón	2.5
Holanda	2.3
España	1.6
Polonia	1.2