



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
EN MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

**Optimización del protocolo de movilización de
células progenitoras hematopoyéticas para su
trasplante autólogo**

Alumno: Francisco López Castaño

Tutor: Pascual Fernández Abellán

Curso: 2017/18

Resumen

Introducción: El trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas es un componente esencial del tratamiento de hemopatías malignas, y requiere la movilización de las células de la médula ósea a la sangre periférica para su recogida mediante aféresis. Este estudio compara tres protocolos de movilización y aféresis para determinar cuál tiene mejor relación coste-beneficio.

Material y métodos: Estudio observacional, analítico, de cohortes, retrospectivo, realizado en el Hospital General Universitario de Alicante entre febrero y junio de 2018, que compara tres protocolos de movilización y aféresis en pacientes con hemopatías malignas candidatos a trasplante autólogo. Se compara el porcentaje de fracasos, la cantidad de células obtenidas, los días de aféresis necesarios y el coste económico en los dos protocolos antiguos y en el actual, que incluye G-CSF 20 µg/kg/día x 4 días ± plerixafor 0,24 mg/kg/día preventivo o de rescate movilizando 3-4 volemias mediante leucoféresis de grandes volúmenes.

Resultados: En una serie de 119 pacientes se demuestra que el protocolo actual, a diferencia de los otros, consigue reducir los fracasos de movilización a 0% y la mediana de días de aféresis a 1, permitiendo obtener una mayor cantidad de células progenitoras hematopoyéticas con menor coste económico que el protocolo 2 ($p < 0,05$).

Conclusiones: El protocolo actual tiene una mejor relación coste-beneficio que los anteriores. Futuros estudios podrían comprobar si también proporciona una mejor viabilidad de las células obtenidas y una mayor tasa de éxito del trasplante.

Palabras clave: leucoféresis de grandes volúmenes, movilización, células progenitoras hematopoyéticas, trasplante autólogo

Abstract

Introduction: Autologous hematopoietic stem cell transplantation is an essential component of the treatment of malignant hemopathies, and requires the mobilization of cells from the bone marrow to the peripheral blood to collect them by apheresis. This study compares three mobilization and apheresis protocols to determine which of them has the best cost-benefit ratio.

Material and methods: Observational, analytical, retrospective cohort study, carried out at the Hospital General Universitario de Alicante between February and June 2018, which compares three mobilization and apheresis protocols in patients with malignant hemopathies who are candidates for autologous transplantation. The percentage of failures, the number of cells obtained, the days of apheresis required and the economic cost are compared in the two previous protocols and the current one, which includes G-CSF 20 µg/kg/day x 4 days ± preventive or rescue plerixafor 0.24 mg/kg/day mobilizing 3-4 volumes by large-volume leukapheresis.

Results: In a series of 119 patients it is demonstrated that the current protocol, unlike the others, manages to reduce mobilization failures to 0% and the median of days of apheresis to 1, allowing to obtain a greater number of hematopoietic stem cells with lower economic cost than protocol 2 (p<0.05).

Conclusions: The current protocol has a better cost-benefit ratio than the previous ones. Further studies may check if it also provides a better viability of the cells obtained and a higher success rate of the transplant.

Keywords: large-volume leukapheresis, mobilization, hematopoietic stem cells, autologous transplantation

Índice

• Aspectos preliminares:	
▪ Resumen / Palabras clave	2
▪ Abstract / Keywords	3
• Cuerpo del TFM:	
1. Introducción. Estado actual de la cuestión.....	5
2. Hipótesis	11
3. Objetivos.....	11
4. Material y métodos	12
4.1. Diseño.....	12
4.2. Sujetos	12
4.3. Procedimiento.....	14
4.4. Variables a estudio.....	15
4.5. Recogida de variables.....	15
4.6. Análisis de datos.....	15
5. Plan de trabajo	17
6. Aspectos éticos	17
7. Aplicabilidad y utilidad de resultados	17
8. Presupuesto	17
9. Resultados.....	18
10. Discusión	19
11. Conclusiones.....	21
12. Agradecimientos	21
• Bibliografía.....	22
• Anexos	25

1. Introducción. Estado actual de la cuestión

El trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH), conocido habitualmente como trasplante autólogo de médula ósea (MO), es un componente esencial del tratamiento de hemopatías malignas como el mieloma múltiple (MM), linfomas no Hodgkin (LNH) y de Hodgkin (LH) y algunos casos de leucemia aguda mieloblástica (LAM), y requiere la obtención previa de células progenitoras hematopoyéticas (CPH). El método preferido en la actualidad para este fin es la movilización y recolección de las CPH en sangre periférica (SP) mediante aféresis¹.

Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

El auto-TPH se emplea para rescatar la función medular en pacientes con neoplasias quimiosensibles que han recibido altas dosis de quimioterapia (QT). El tratamiento intensivo con QT (acondicionamiento) pretende eliminar las células neoplásicas, pero también destruye las células normales de la MO, produciendo una insuficiencia medular incompatible con la vida. La MO o las CPH de SP del propio paciente pueden recolectarse cuando este se encuentre en remisión completa (RC), almacenarse y reinfundirse tras el acondicionamiento para recuperar la hematopoyesis (Figura 1). La morbimortalidad del procedimiento es escasa y está en relación directa con la duración de las citopenias, que oscila entre 2 y 4 semanas².

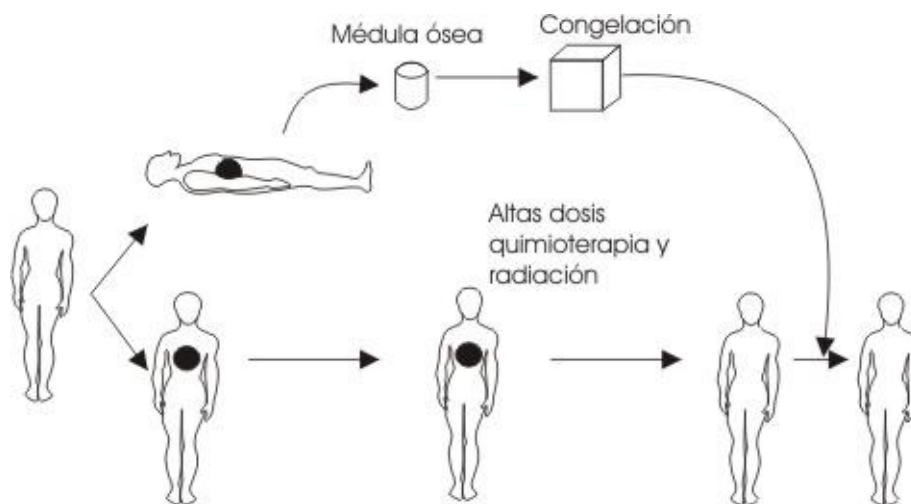


Figura 1. Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

A diferencia del trasplante alogénico (alo-TPH), el auto-TPH tiene las ventajas de no precisar la búsqueda de un donante, de que se puede realizar con seguridad en pacientes de mayor edad y de que su mortalidad es menor, al no existir problemas inmunológicos, fundamentalmente por la ausencia de enfermedad injerto contra receptor. Su mayor desventaja es la alta tasa de recaídas, relacionada en parte con la ausencia del efecto inmunológico del injerto contra el tumor y con la potencial contaminación tumoral del injerto.

Mieloma múltiple

Dado que la QT convencional no cura la enfermedad, el alo-TPH y el auto-TPH son opciones justificables. El 45% de los pacientes sometidos a alo-TPH alcanzan RC, pero la mortalidad relacionada con el procedimiento es muy alta (40%)³. Por este motivo, esta opción se reserva únicamente para pacientes de alto riesgo y/o en fases más avanzadas de la enfermedad, no constituyendo una opción terapéutica dentro de la primera línea de tratamiento de manera habitual.

En contraste, el auto-TPH forma parte de la primera línea de tratamiento, junto con los nuevos fármacos (inmunomoduladores e inhibidores de proteasomas), en los pacientes con MM menores de 65-70 años. Con esta estrategia combinada se alcanza una tasa de RC tras el auto-TPH de alrededor del 50%, y un porcentaje de estos pacientes se mantienen libres de enfermedad más allá de los 10 años³.

Linfoma no Hodgkin

El alo-TPH y el auto-TPH pueden ser curativos en los LNH de grado intermedio y alto de malignidad, y sus resultados estarán en relación directa con la sensibilidad del tumor a la QT convencional. Los resultados del alo-TPH son similares a los del auto-TPH, ya que el efecto beneficioso del efecto injerto contra tumor del alo-TPH se equilibra con su mayor toxicidad. Por ello, es preferible el auto-TPH, ya que tiene menos complicaciones a largo plazo, y el alo-TPH se reserva para los pacientes que recaen tras un auto-TPH.

El auto-TPH es la terapia de elección en los pacientes con LNH de cualquier grado de malignidad que recaen y son sensibles a la QT de rescate. Algunos expertos aconsejan el auto-TPH como consolidación de la primera remisión en pacientes con

factores de mal pronóstico³. El papel del auto-TPH en primera línea está más claro en el linfoma del manto.

Linfoma de Hodgkin

Casi el 75% de los pacientes con LH se curan con los actuales esquemas de QT³. El auto-TPH se recomienda en los pacientes que recaen cuando han sido tratados inicialmente con QT, sobre todo si la recidiva es quimiosensible. El alo-TPH está indicado en los casos refractarios al tratamiento inicial o en recaídas precoces tras un auto-TPH.

Los resultados son mejores si el trasplante se realiza precozmente tras la recaída, cuando la enfermedad aún es sensible a la QT y tiene poco volumen (supervivencias del 50-70%), que más adelante, cuando la enfermedad se ha hecho resistente y existe gran masa tumoral (supervivencia del 10 %)³. También en esta enfermedad se ha empleado el trasplante en tándem, auto-TPH seguido de alo-TPH, en los pacientes primariamente resistentes o en recaída poco sensibles a QT.

Leucemia aguda mieloblástica

Los pacientes con LAM de bajo riesgo de recaída en primera RC serían candidatos a auto-TPH o QT como tratamiento de intensificación. En el caso de los pacientes de riesgo intermedio, la opción preferida sería el donante familiar HLA idéntico, procediendo a auto-TPH en caso de no disponer del mismo.

Movilización y aféresis

Como se ha indicado en el apartado anterior, el auto-TPH requiere la obtención de CPH (generalmente un mínimo de $2-3 \times 10^6/\text{kg}$, o $5-6 \times 10^6/\text{kg}$ en los trasplantes dobles¹) de SP del propio paciente mediante aféresis. El procedimiento que permite el paso de las CPH desde la MO a la SP es la movilización.

Células progenitoras hematopoyéticas

Las CPH (Figura 2) son las células madre multipotenciales que dan origen a todas las células de la sangre y del sistema inmune, y mantienen la hematopoyesis durante toda la vida del individuo. Hay 1-5 por cada 10.000 células nucleadas de la MO y, aunque en mucho menor número, también están presentes en la SP, donde aumentan

significativamente tras la aplicación de QT o el empleo de factores de crecimiento hematopoyéticos recombinantes^{4,5}.

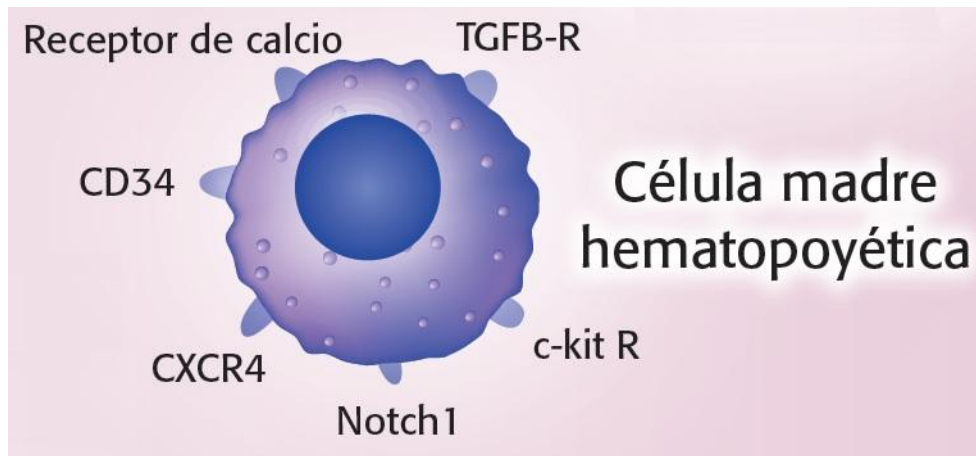


Figura 2. Célula progenitora hematopoyética

La utilización de anticuerpos monoclonales que reconocen moléculas de superficie expresadas selectivamente en las CPH ha permitido separar estas células de otras presentes en la MO. El empleo de estos anticuerpos ha evidenciado que las CPH son positivas para los antígenos CD34, c-kit (CD117) y Thy-1 (CD90), y son negativas para HLA-DR, CD15 y CD77^{5,6}. Las células CD34+ son las que se utilizan para el trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Fármacos utilizados

Los protocolos de movilización convencionales incluyen el uso como agente movilizador del factor estimulador de las colonias granulocíticas (G-CSF), solo o en combinación con quimioterápicos como la ciclofosfamida. El empleo de QT tiene como inconveniente principal la toxicidad, además de la dificultad para predecir el momento apropiado para la recolección. Estas desventajas se resuelven con el uso exclusivo del G-CSF, aunque este esquema tiene una tasa de fracasos del 30%⁷, y de hasta un 60% en pacientes de alto riesgo, como aquellos expuestos a fludarabina o citotóxicos mieloablativos similares⁸.

La introducción de un nuevo agente movilizador, el plerixafor (Mozobil®), un inmunoestimulador antagonista de la proteína CXCR4 que se utiliza vía subcutánea (SC) en combinación con el G-CSF, ha contribuido al rescate de estos fracasos de movilización, a expensas de un elevado coste. Este fármaco tiene un papel fundamental

en los pacientes con factores de riesgo de fracaso de movilización, llamados “malos movilizadores”, administrándolo bien de forma preventiva desde el día anterior a la primera sesión, o bien de rescate durante los días sucesivos^{1,9}. Existen recomendaciones en cuanto al uso del plerixafor, pero no hay acuerdo en los criterios de mal pronóstico de movilización, utilizando cada centro los suyos propios.

Los agentes movilizadores (G-CSF, plerixafor) se continúan administrando los días de aféresis hasta obtener el objetivo de CPH. El plerixafor se administra 6-11 horas antes de iniciar cada sesión de aféresis, tras un período previo de 4 días en tratamiento con G-CSF.

Técnica de aféresis

Una vez en SP, las CPH son recogidas mediante aféresis, realizando tantas sesiones como sea necesario para alcanzar el objetivo deseado. En este procedimiento, el paciente es conectado por vía venosa a una máquina (Figura 3) que separa los componentes sanguíneos (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y plasma) por centrifugación según su densidad y selecciona las CPH para su extracción, devolviendo el resto de componentes a la circulación.

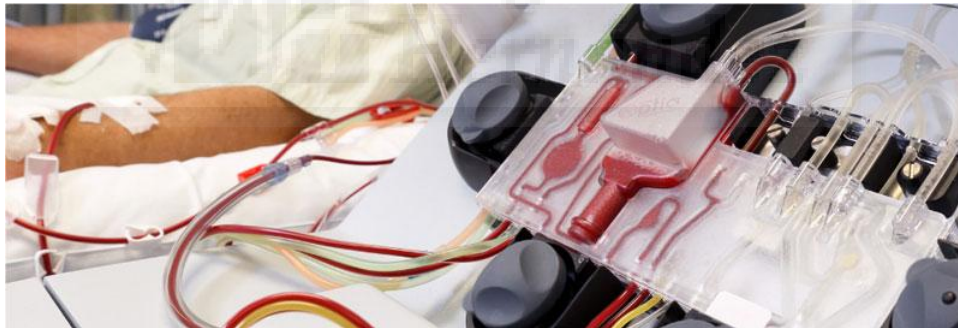


Figura 3. Separador celular

Las CPH recogidas son cuantificadas por citometría de flujo y criopreservadas a -196°C utilizando nitrógeno líquido, para posteriormente descongelarlas y reinfundirlas al paciente cuando esté en RC tras la administración de QT (acondicionamiento)².

La leucoféresis de grandes volúmenes (LGV) difiere de la estándar en el aumento del volumen sanguíneo procesado (3-4 volemias) gracias a la colocación de una vía de alto flujo¹⁰ y en un régimen de anticoagulación modificado con la adición de heparina¹¹.

Problemas actuales

Debido al aumento del coste medio por paciente, ha surgido la necesidad de optimizar el proceso teniendo en cuenta los siguientes objetivos¹: reducir las sesiones de aféresis necesarias para la recolección del objetivo mínimo de células CD34+, disminuir el porcentaje de fracasos de movilización y conseguir una adecuada relación coste-beneficio.

Actualmente existen múltiples esquemas de movilización disponibles, pero no hay consenso acerca de cuál es el mejor protocolo, lo que conduce al desarrollo de algoritmos propios de cada centro, en cuanto al empleo de agentes quimioterápicos clásicos, la utilización del plerixafor, la dosis de G-CSF¹², el uso de la LGV¹⁰⁻¹³ o la introducción de otros agentes movilizadores¹⁴⁻¹⁸.



2. Hipótesis

El protocolo de movilización de CPH para aféresis actualmente implantado en la Unidad de Medicina Transfusional (UMT) del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA), que incluye G-CSF 20 µg/kg/día SC x 4 días ± plerixafor 0,24 mg/kg/día SC preventivo o de rescate movilizando 3-4 volemias mediante LGV, tiene mejor relación coste-beneficio que los protocolos utilizados anteriormente.

3. Objetivos

Principal:

- Determinar si el protocolo de movilización de CPH para aféresis que incluye G-CSF 20 µg/kg/día SC x 4 días ± plerixafor 0,24 mg/kg/día SC preventivo o de rescate movilizando 3-4 volemias mediante LGV tiene menos porcentaje de fracasos que los protocolos convencionales.

Secundarios:

- Comparar la cantidad de CPH obtenidas en el protocolo actual y en los convencionales.

- Comparar los días de aféresis necesarios en el protocolo actual y en los convencionales.

- Comparar el coste económico en el protocolo actual y en los convencionales.

4. Material y métodos

4.1. Diseño

Estudio observacional, analítico, de cohortes, retrospectivo, realizado en el HGUA entre febrero y junio de 2018, en el que se comparan desde el punto de vista tanto clínico como económico tres protocolos de movilización y aféresis (Figura 4) empleados en la UMT de forma sucesiva en el tiempo:

- 1) G-CSF 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ SC x 4 días movilizando 1-1,5 volemias.
- 2) G-CSF 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ SC x 4 días + plerixafor 0,24 $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$ SC preventivo o de rescate movilizando 1-1,5 volemias.
- 3) G-CSF 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ SC x 4 días \pm plerixafor 0,24 $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$ SC preventivo o de rescate movilizando 3-4 volemias mediante LGV.

4.2. Sujetos

Se incluyen los pacientes adultos con hemopatías malignas, candidatos a auto-TPH, remitidos a la UMT del HGUA entre enero de 2013 y junio de 2017 para movilización de CPH para su recogida mediante aféresis. No se realiza muestreo, puesto que se incluyen todos los pacientes mencionados sin aplicar criterios de exclusión.

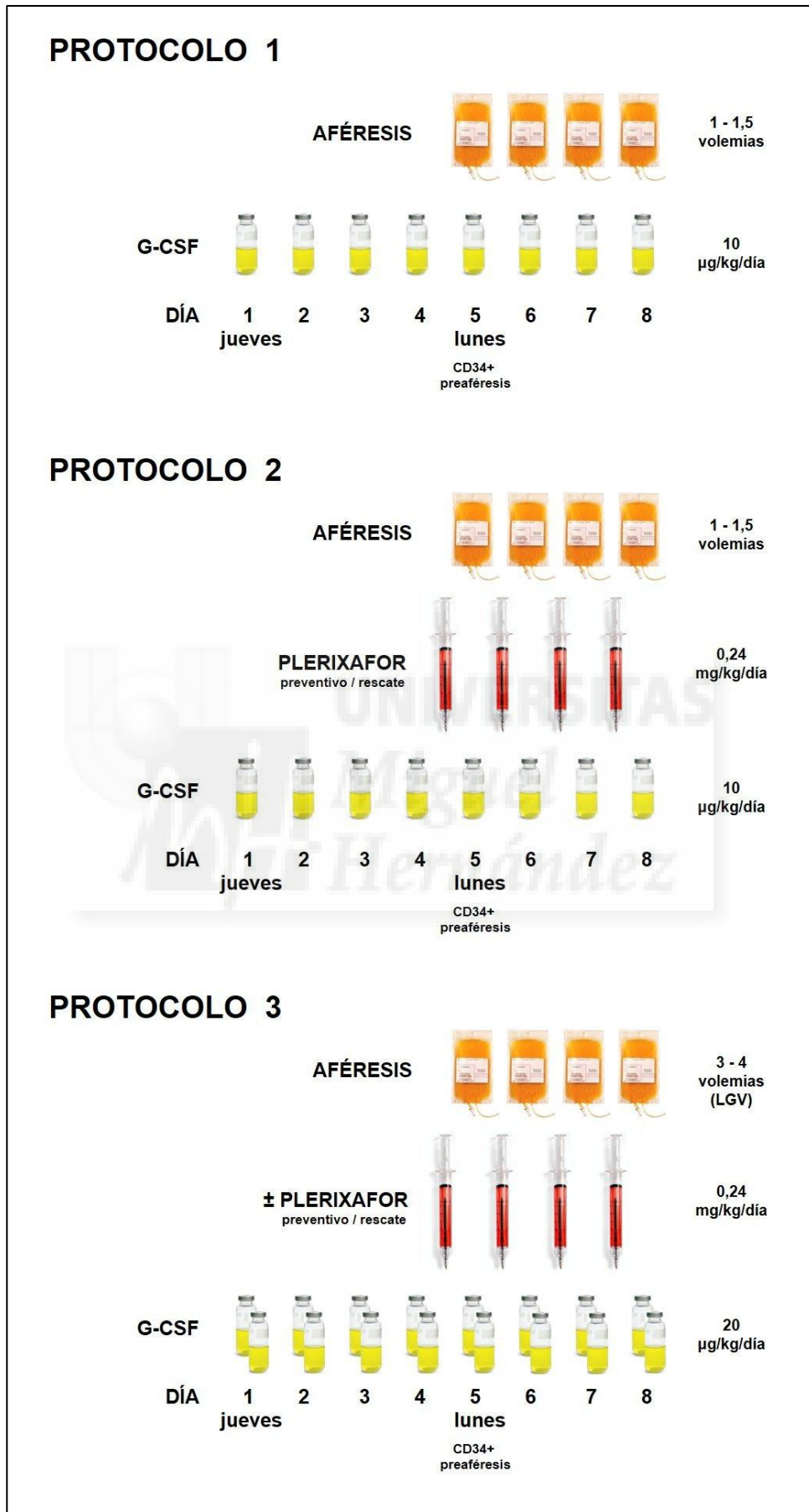


Figura 4. Protocolos de movilización empleados

4.3. Procedimiento

A continuación se describen brevemente algunos detalles técnicos de los tres protocolos mencionados que se comparan en el estudio.

En cuanto a los agentes movilizadores, los pacientes con diagnóstico de LAM se movilizaron exclusivamente con G-CSF, estando contraindicado el plerixafor en estos casos. En los protocolos que incluyen el plerixafor, según la evaluación inicial del paciente y sus factores de riesgo de mala movilización, se optó por su uso preventivo (desde el día 4) o, en caso de mal rendimiento, de rescate (durante los días de aféresis), como ilustra la Figura 4.

Se administró de forma preventiva el plerixafor en aquellos pacientes que reunían un criterio de cada uno de los grupos de “malos movilizadores” (Tabla 1):

<p>Datos de agotamiento medular</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Trombopenia ($<120 \times 10^9/L$) y/o neutropenia ($<1,2 \times 10^9/L$) basal · Datos de infiltración de la médula ósea · Radioterapia previa en zonas óseas hematopoyéticas · Más de 2 líneas de tratamiento · Haber recibido bendamustina, fludarabina, melfalán, lenalidomida o ciclofosfamida ($>7,5 \text{ g/m}^2$)
<p>Otros factores clínicos</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Edad >60 años · Sexo femenino · Trasplante previo · Fracaso previo de movilización · Linfoma no Hodgkin

Tabla 1. Criterios de mal pronóstico de movilización

Los recuentos de células CD34+ en SP del paciente se realizaron en el día 5 antes de comenzar el proceso con el citómetro BD FACSCanto™ II y el software Infinicyt™ 1.8. Se inició la recogida cuando la concentración de células CD34+ fue $>10/\mu\text{L}$; con cifras inferiores se consideró fracaso de movilización.

Las aféresis fueron realizadas con las máquinas Haemonetics MCS+® y Terumo BCT Spectra Optia®. En los pacientes incluidos en los protocolos 1 y 2 el procedimiento se realizó por vía periférica o por vía femoral de alto flujo (tipo Shaldon) cuando los accesos venosos eran insuficientes. En los pacientes incluidos en el protocolo 3 con LGV se colocó vía femoral de alto flujo en todos los casos.

4.4. Variables a estudio

Variables resultado: Fracaso o no de movilización (principal), CPH x 10⁶/kg recogidas, número de aféresis necesarias, coste económico en euros (secundarias).

Variable predictora: Protocolo de movilización de CPH para aféresis (1, 2 o 3).

Variables descriptivas (filiación): Sexo (mujer o varón), edad (años), diagnóstico (MM, LNH, LH o LAM).

Se consideran fracasos de movilización los casos con recuentos de células CD34+ en SP preaféresis <10/μL.

Las variables categóricas (fracaso, protocolo, sexo y diagnóstico) se expresan en forma de porcentaje, mientras que las numéricas (CPH, aféresis, coste y edad) se expresan como media (\bar{x}) y desviación estándar (s) si su distribución es normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($p>0,05$) o como mediana (Me) y rango intercuartílico (RIQ) en caso contrario ($p<0,05$).

4.5. Recogida de variables

Se recogieron los datos de las variables consideradas de los pacientes incluidos en el estudio mediante la revisión de sus historias clínicas de la UMT del HGUA. Los datos recogidos (Anexo 1) fueron codificados y registrados para su posterior análisis mediante el paquete estadístico SPSS.

En el estudio económico se consideran las tasas oficiales vigentes, según la actual Ley de Tasas de la Generalitat, para el cálculo del coste de la estancia hospitalaria y de los procesos (aféresis y criopreservación). El cálculo del coste de los fármacos utilizados se basa en los precios indicados por el Servicio de Farmacia Hospitalaria del HGUA.

4.6. Análisis de datos

El análisis estadístico se realiza con el software IBM® SPSS® 22.0. Se comparan los tres grupos de pacientes en cuanto a sus variables descriptivas para garantizar la comparabilidad de los protocolos, utilizando en el caso de las variables categóricas la prueba Chi cuadrado (χ^2), y en el caso de la variable numérica el análisis

de la varianza o ANOVA (F) si sigue una distribución normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,05$) o la prueba de Kruskal-Wallis (K) si no la sigue ($p < 0,05$).

Para analizar la asociación estadística entre la variable predictora y las variables resultado se utilizan los test correspondientes, con un nivel de significación del 5%: en el caso de la variable categórica (fracaso), se emplea la prueba Chi cuadrado (χ^2) o el test exacto de Fisher (f) si alguno de los valores es < 5 ; en el resto de casos (variables numéricas), se utiliza la prueba T de Student si siguen una distribución normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,05$) o la prueba U de Mann-Whitney si no lo hacen ($p < 0,05$). Para responder a los objetivos del estudio, se compara el protocolo 3 con el 1 y el 2 por separado.



5. Plan de trabajo

Francisco López Castaño: investigador principal, diseñó el estudio, recogió los datos, analizó e interpretó los resultados y redactó el manuscrito.

Pascual Fernández Abellán: tutor y supervisor del trabajo.

Luis Hernández Mateo: cotutor y supervisor del trabajo.

- 1) Febrero de 2018: inicio del proyecto, elaboración del protocolo de investigación.
- 2) Marzo y abril de 2018: recogida de los datos e inclusión en la base de datos.
- 3) Mayo y junio de 2018: análisis de los datos, interpretación de los resultados y elaboración del manuscrito.

6. Aspectos éticos

Los procedimientos seguidos están de acuerdo con las normas éticas de la Declaración de Helsinki. Se trata de un estudio observacional y, por tanto, no implica ninguna intervención ni efecto adverso sobre los pacientes incluidos. Dado el carácter observacional y retrospectivo del estudio, basado en la revisión de historias clínicas, y puesto que muchos de los pacientes ya no son seguidos en el hospital o han fallecido, no es posible obtener el consentimiento informado. Los datos fueron codificados para garantizar el anonimato de los pacientes y solo tuvieron acceso a ellos el investigador principal y colaboradores, el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del HGUA y las autoridades sanitarias. El trabajo ha sido sometido a revisión por el CEIC del HGUA (Anexo 2).

7. Aplicabilidad y utilidad de resultados

La finalidad del trabajo es definir el protocolo óptimo de movilización y aféresis de CPH para auto-TPH con los recursos (fármacos y técnicas) disponibles actualmente.

8. Presupuesto

El trabajo no tiene coste alguno al ser un estudio observacional de la práctica clínica habitual y al no recibir el investigador principal compensación económica.

9. Resultados

Pacientes: De los 119 pacientes incluidos en el estudio, 52 (43,7%) habían sido asignados al protocolo 1 (enero 2013 – octubre 2016), 37 (31,1%) al protocolo 2 (septiembre 2013 – octubre 2016) y 30 (25,2%) al protocolo 3 (noviembre 2016 – junio 2017). Las distribuciones por sexo, edad y diagnóstico se detallan en la Tabla 2: en total 58 (48,7%) mujeres y 61 (51,3%) varones de entre 18 y 68 años de edad; 54 (45,4%) con MM, 39 (32,8%) con LNH, 18 (15,1%) con LH y 8 (6,7%) con LAM.

Pacientes (119)	P1 (52)	P2 (37)	P3 (30)	Prueba	p
Mujeres (58)	21 (40%)	19 (51%)	18 (60%)	$\chi^2 = 3,076$	>0,05
Varones (61)	31 (60%)	18 (49%)	12 (40%)		
Edad Me (RIQ)	51 (17,75)	57 (21)	55 (15,75)	K = 0,648	>0,05
MM (54)	24 (46%)	16 (43%)	14 (47%)	$\chi^2 = 3,613$	>0,05
LNH (39)	14 (27%)	15 (41%)	10 (33%)		
LH (18)	8 (15%)	6 (16%)	4 (13%)		
LAM (8)	6 (12%)	0 (0%)	2 (7%)		

Tabla 2. Características de los pacientes

No se evidencian diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en ninguna de las variables descriptivas entre los pacientes de cada grupo, considerándose las muestras comparables.

Protocolos: Los resultados del estudio se presentan en las Tablas 3 y 4. Para todas las variables se compara el protocolo 3 con el 1 y el 2 por separado.

Protocolo (n)	P1 (52)	P3 (30)	U	p
% fracasos	15,4	0	f = 0,024	<0,05
Me x 10^6 CD34+/kg (RIQ)	4,76 (2,76)	5,42 (6,75)	639,500	>0,05
Me aféresis (RIQ)	3 (1)	1 (1)	83,000	<0,05
Me coste (€) (RIQ)	7.327,40 (2.296,56)	8.917,41 (4.006,74)	735,000	>0,05

Tabla 3. Resultados P1 vs P3

Protocolo (n)	P2 (37)	P3 (30)	U	p
% fracasos	21,6	0	f = 0,007	<0,05
Me x 10 ⁶ CD34+/kg (RIQ)	4,12 (2,98)	5,42 (6,75)	328,000	<0,05
Me aféresis (RIQ)	3 (1,5)	1 (1)	120,500	<0,05
Me coste (€) (RIQ)	23.550,38 (12.034,18)	8.917,41 (4.006,74)	99,000	<0,05

Tabla 4. Resultados P2 vs P3

Como se muestra en las Tablas 3 y 4, el protocolo 3 consigue una reducción significativa ($p < 0,05$) de los fracasos de movilización, pasando de 15,4% (protocolo 1) o 21,6% (protocolo 2) a 0%. También permite obtener una cantidad mediana de CPH significativamente superior ($p < 0,05$) al protocolo 2: $5,42 \times 10^6$ CD34+/kg frente a 4,12. Asimismo, permite reducir significativamente ($p < 0,05$) el número de aféresis necesarias de una mediana de 3 (protocolos 1 y 2) a 1. No existen diferencias significativas ($p > 0,05$) con la mediana de coste del protocolo 1, pero sí existe una disminución significativa ($p < 0,05$) respecto al protocolo 2 (8.917,41€ frente a 23.550,38€).

10. Discusión

Como ya se indicó en la introducción de este trabajo, en la actualidad no existe acuerdo acerca de cuál es el algoritmo idóneo de movilización y aféresis de CPH para su auto-TPH en pacientes con hemopatías malignas. En la UMT del HGUA se ha desarrollado un protocolo con la intención de mejorar la relación coste-beneficio respecto a los esquemas utilizados previamente, combinando distintas estrategias descritas en la literatura: G-CSF 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ SC x 4 días \pm plerixafor 0,24 $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$ SC preventivo o de rescate movilizándolo 3-4 volemias mediante LGV. La hipótesis a demostrar en el presente trabajo es la superioridad de dicho protocolo.

En cuanto a la dosis de G-CSF utilizada en los días preaféresis, la más frecuente en la literatura es de 5-10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ SC x 4 días, pero se han descrito dosis mayores con buena tolerancia y escasa toxicidad. Según Weaver et al.¹², la dosis de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ es inferior a las de 20-40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ en cuanto al porcentaje de fracasos y a la cantidad de

CPH recogidas, aunque dosis $>20 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ no aumentan la eficacia y sí la toxicidad. Por esta razón, el protocolo de nuestro centro incluye la dosis de $20 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$.

Respecto al uso del plerixafor, está en duda el momento adecuado para su administración: de forma preventiva desde el día previo a la primera aféresis^{9,14,15}, o bien de rescate durante los días sucesivos en caso de obtener malos resultados en las aféresis^{9,15,16,19}. Esto implica la identificación de los pacientes llamados “malos movilizadores”, para lo cual se han propuesto multitud de datos biológicos y clínicos, aún sin consenso²⁰. Nuestro protocolo contempla marcadores de deterioro de la función hematopoyética medular y otros factores biológicos (Tabla 1), optando por el plerixafor preventivo cuando existe al menos un criterio de cada categoría. Sí parece haber acuerdo en el valor pronóstico de las CD34+ en SP preaféresis, siendo los recuentos $<5-10 \text{ CD34+}/\mu\text{L}$ el principal factor de riesgo de fracaso²¹⁻²³.

También se incorporó al protocolo de nuestro centro la estrategia basada en aumentar el volumen procesado en cada sesión mediante LGV⁷, que permite realizar las aféresis con éxito en pacientes con recuentos previos de $5-10 \text{ CD34+}/\mu\text{L}$ ⁸.

Gracias a estas modificaciones, nuestro protocolo actual consigue reducir a 0% los fracasos de movilización respecto a los protocolos convencionales utilizados previamente, respondiendo así al objetivo principal de este trabajo. Además, mediante este protocolo fueron rescatados fracasos de movilización de los protocolos anteriores.

El resto de objetivos del trabajo también se han contestado en el estudio. El protocolo actual permite obtener una cantidad mediana de CPH significativamente superior a la del protocolo 2 en menos días de aféresis que los protocolos 1 y 2. En cuanto al coste económico, el gasto medio por paciente es ligeramente superior en el protocolo 3 que en el protocolo 1, sin llegar a ser significativo, pero significativamente inferior que en el protocolo 2, con una reducción en la mediana de un 62%. Esto puede deberse a la disminución de los fracasos de movilización y de los días de aféresis y, por tanto, de ingreso hospitalario y del uso de fármacos movilizadores.

El presente estudio tiene como limitación la ausencia de cálculo del tamaño de muestra, ya que se utilizan todos los datos de los que se dispone. El estudio compara resultados de pacientes que no fueron asignados de forma aleatoria a los distintos protocolos, por corresponder a series sucesivas de pacientes, dado que los protocolos se fueron modificando según la introducción de nuevos fármacos y nuevas técnicas. La

ausencia de aleatorización se debe a la cuestión ética de evitar la movilización con procedimientos inferiores a los últimos incorporados.

A partir de este trabajo, una futura línea de trabajo interesante consistiría en relacionar los protocolos con la viabilidad o proporción de células supervivientes de las CPH obtenidas y el éxito o fracaso de implante del injerto tras el trasplante.

11. Conclusiones

La serie de 119 pacientes incluidos en el estudio permite demostrar la superior relación coste-beneficio del protocolo que incluye G-CSF 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ SC x 4 días \pm plerixafor 0,24 mg/kg/día SC preventivo (si existen criterios que prevén una mala movilización) o de rescate (en caso de mal rendimiento de las aféresis) movilizándolo 3-4 volemias mediante LGV frente a los otros protocolos, en cuanto a que consigue reducir los fracasos de movilización a 0% y la mediana de días de aféresis a 1, permitiendo obtener una mayor cantidad de CPH con menor coste económico que el protocolo 2.

Resultaría interesante relacionar los protocolos también con la viabilidad de las CPH obtenidas y el éxito o fracaso de implante de las mismas en el auto-TPH.

12. Agradecimientos

Agradecemos la colaboración prestada por la UMT del Servicio de Hematología del HGUA y por los pacientes incluidos en el estudio.

Bibliografía

1. Salvino MA, Ruiz J. Hematopoietic progenitor cell mobilization for autologous transplantation – a literature review. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016;38(1):28-36.
2. Hsu YM, Cushing MM. Autologous Stem Cell Mobilization and Collection. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2016;30(3):573-89.
3. Conde E, Pérez JA. Trasplante de progenitores hematopoyéticos. En: Moraleda JM, editor. *Pregrado de Hematología.* 4ª ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 511-57.
4. Eaves CJ. Hematopoietic stem cells: concepts, definitions, and the new reality. *Blood.* 2015;125(17):2605-13.
5. García C, Moraleda JM. Hematopoyesis. Hematíes: estructura y función. En: Moraleda JM, editor. *Pregrado de Hematología.* 4ª ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 15-33.
6. Méndez-Ferrer S, Scadden DT, Sánchez-Aguilera A. Bone marrow stem cells: current and emerging concepts. *Ann N Y Acad Sci.* 2015;1335(1):32-44.
7. Humpe A, Buwitt-Beckmann U, Schub N, Gramatzki M, Günther A. Successful mobilization, intra-apheresis recruitment, and harvest of hematopoietic progenitor cells by addition of plerixafor and subsequent large-volume leukapheresis. *Transfus Med Hemother.* 2013;40(4):251-7.
8. To LB, Levesque JP, Herbert KE. How I treat patients who mobilize hematopoietic stem cells poorly. *Blood.* 2011;118(17):4530-40.
9. Cheng J, Schmitt M, Wuchter P, Buss EC, Witzens-Harig M, Neben K, et al. Plerixafor is effective either preemptively or as a rescue strategy in poor stem cell mobilizing patients with multiple myeloma. *Transfusion.* 2015;55(2):275-83.
10. Gasová Z, Marinov I, Vodvářková S, Böhmová M, Bhuyian-Ludvíková Z. PBPC collection techniques: standard versus large volume leukapheresis (LVL) in donors and in patients. *Transfus Apher Sci.* 2005;32(2):167-76.
11. Bojanic I, Mazic S, Rajic L, Jakovljevic G, Stepan J, Cepulic BG. Large volume leukapheresis is efficient and safe even in small children up to 15 kg body weight. *Blood Blood Transfus.* 2017;15(1):85-92.
12. Weaver CH, Birch R, Greco FA, Schwartzberg L, McAneny B, Moore M, et al. Mobilization and harvesting of peripheral blood stem cells: randomized

- evaluations of different doses of filgrastim. *Br J Haematol.* 1998;100(2):338-47.
13. Mohty M, Hübel K, Kröger N, Aljurf M, Apperley J, Basak GW, et al. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: a position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49(7):865-72.
 14. Antar A, Otrrock ZK, Kharfan-Dabaja MA, Ghaddara HA, Kreidieh N, Mahfouz R, et al. G-CSF plus preemptive plerixafor vs hyperfractionated CY plus G-CSF for autologous stem cell mobilization in multiple myeloma: effectiveness, safety and cost analysis. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50(6):813-7.
 15. Haverkos BM, Huang Y, Elder P, O'Donnell L, Scholl D, Whittaker B, et al. A single center's experience using four different front line mobilization strategies in lymphoma patients planned to undergo autologous hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52(4):561-6.
 16. Veltri L, Cumpston A, Shillingburg A, Wen S, Luo J, Leadmon S, et al. Hematopoietic progenitor cell mobilization with "just-in-time" plerixafor approach is a cost effective alternative to routine plerixafor use. *Cytotherapy.* 2015;17(12):1785-92.
 17. Gašová Z, Bhuiyan-Ludvíková Z, Böhmová M, Marinov I, Vacková B, Pohlreich D, et al. PBPC collections: Management, techniques and risks. *Transfus Apher Sci.* 2010;43(2):237-43.
 18. Mohammadi S, Malek Mohammadi A, Nikbakht M, Norooznehad AH, Alimoghaddam K, Ghavamzadeh A. Optimizing stem cells mobilization strategies to ameliorate patient outcomes: a review of guidelines and recommendations. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2017;11(1):78-88.
 19. Milone G, Martino M, Spadaro A, Leotta S, Di Marco A, Scalzulli P, et al. Plerixafor on-demand combined with chemotherapy and granulocyte colony-stimulating factor: significant improvement in peripheral blood stem cells mobilization and harvest with no increase in costs. *Br J Haematol.* 2014;164(1):113-23.
 20. Musto P, Simeon V, Grossi A, Gay F, Bringhen S, Larocca A, et al. Predicting poor peripheral blood stem cell collection in patients with multiple myeloma receiving pre-transplant induction therapy with novel agents and mobilized

with cyclophosphamide plus granulocyte-colony stimulating factor: results from a Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell'Adulto Multiple Myeloma Working Party study. *Stem Cell Res Ther.* 2015;6(1):64.

21. Storch E, Mark T, Avecilla S, Pagan C, Rhodes J, Shore T, et al. A novel hematopoietic progenitor cell mobilization and collection algorithm based on preemptive CD34 enumeration. *Transfusion.* 2015;55(8):2010-6.
22. Van Oostrum A, Zwaginga JJ, Croockewit S, Overdeest J, Fechter M, Ruitkamp B, et al. Predictors for successful PBSC collection on the fourth day of G-CSF-induced mobilization in allogeneic stem cell donors. *J Clin Apher.* 2017;32(6):397-404.
23. Horwitz ME, Chute JP, Gasparetto C, Long GD, McDonald C, Morris A, et al. Preemptive dosing of plerixafor given to poor stem cell mobilizers on day 5 of G-CSF administration. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47(8):1051-5.



Anexos

Anexo 1: Hoja de recogida de datos

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

Paciente	Protocolo	Sexo	Edad	Diagnóstico	Aféresis	CD34+	Coste	Fracaso
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								

Anexo 2: Presentación al Comité Ético de Investigación Clínica del HGUA
(Documentación aportada el 17 de abril de 2018)



D. José Sánchez Payá, como Director Científico del Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL) – Fundación FISABIO,

CERTIFICA que

Dr. Francisco López Castaño, ha presentado el proyecto de investigación titulado: **"OPTIMIZACIÓN DEL PROTOCOLO DE MOVILIZACIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS PARA SU TRASPLANTE AUTÓLOGO (TRABAJO FIN DE MÁSTER DEL MÁSTER EN INVESTIGACIÓN EN MEDICINA CLÍNICA)" -180233**, al Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), que toda la documentación aportada esta siendo evaluada por los órganos que correspondan de este (Comisión de Investigación, CEIC, etc.) y que a la mayor brevedad posible se dispondrá de una resolución respecto a este.

Y para que conste, lo firmo en Alicante con fecha 18 de mayo de dos mil dieciocho.

A handwritten signature in black ink, enclosed within a hand-drawn oval. The signature appears to be 'Francisco López Castaño'.