

Leucemia en células del donador (LCD): un estudio prospectivo de su identificación y tratamiento

Guillermo J. Ruiz-Delgado^{1-3*}, Jesús Hernández-Reyes^{1,4}, Mónica Patricia González-Ramírez^{1,5},
Nora Ángela Martagón-Herrera^{1,3}, Javier Garcés-Eisele²⁻³, Alejandro Ruiz-Argüelles^{2,5},
Angélica González-Cortés²⁻³ y Guillermo J. Ruiz-Argüelles^{1-3,5}

¹Centro de Hematología y Medicina Interna, Clínica Ruiz de Puebla. Puebla, Pue., México; ²Laboratorios Clínicos de Puebla, Clínica Ruiz de Puebla. Puebla, Pue., México; ³Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, Puebla, Pue., México; ⁴Universidad del Valle de México, Villahermosa, Tab., México; ⁵Universidad de las Américas Puebla, Puebla, Pue., México

Resumen

Las neoplasias derivadas de las células del donador posteriores al trasplante de un órgano sólido o al trasplante de células hematopoyéticas (TCH) son consideradas como entidades poco frecuentes. Se describen siete casos de leucemias desarrolladas en células de los donadores (LCD) identificados de manera prospectiva en pacientes hematológicos quienes recibieron trasplantes de células hematopoyéticas alogénicas. Se identificaron siete pacientes con LCD en un periodo de 12 años en una sola institución, en el que se trasplantaron 106 pacientes con leucemias; de los pacientes con LCD, seis fueron trasplantados por leucemia aguda linfoblástica (LAL) en segunda remisión y uno por hemoglobinuria paroxística nocturna/hipoplasia medular. La mediana de edad de los pacientes quienes desarrollaron LCD fue de 16 años. Las LCD fueron linfoblásticas en seis casos y en uno leucemia de células peludas. Habiendo identificado siete pacientes con LCD en un grupo de 106 pacientes con leucemia trasplantados, pareciera que su incidencia es mayor que la informada en la literatura mundial. Los pacientes con LCD de estirpe linfoblástica se trataron prospectivamente con un mismo esquema terapéutico diseñado para pacientes con leucemia de novo, teniendo en cuenta que se trata de neoplasias distintas a las que motivaron los TCH alogénicas; los resultados de este tratamiento son halagüeños y sugieren que hasta el 50% de los pacientes con LCD pueden tener respuestas favorables y supervivencias prolongadas empleando quimioterapia (QT) combinada.

PALABRAS CLAVE: Trasplante de células hematopoyéticas. Leucemia de células del donador.

Abstract

Donor-derived malignancies after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and after solid organ transplantation are considered as rare diseases. We have prospectively searched for donor cell leukemia in a 12-year period, in a single institution, in a group of 106 consecutive patients allografted because of leukemia. We have identified seven cases of donor cell leukemia; six were allografted because of relapsed acute lymphoblastic leukemia and one because of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria/aplastic anemia. These figures suggest that the real incidence of donor cell leukemia has been underestimated. The six patients with lymphoblastic donor cell leukemia were treated prospectively with a pediatric-inspired combined chemotherapy schedule designed for de novo acute leukemia. A complete response was obtained in three out of six patients with lymphoblastic donor cell

Correspondencia:

*Guillermo J. Ruiz Delgado
Director adjunto
Centro de Hematología y Medicina Interna. Clínica Ruiz
8B Sur, 3710
C.P. 72530, Puebla, Pue., México
E-mail: gruiiz2@clinicarui.com

Fecha de recepción: 18-08-2014
Fecha de aceptación: 23-08-2014

leukemia. It is possible to obtain favorable responses in donor cell leukemia patients employing combined chemotherapy. The long-term donor cell leukemia survivors remain as full chimeras and have not needed a second transplant. (Gac Med Mex. 2015;151:582-7)

Corresponding author: Guillermo J. Ruiz-Delgado, gruiz2@clinicaruiz.com

KEY WORDS: Hematopoietic stem cell transplantation. HSCT. Donor cell leukemia. DCL.

Introducción

En los casos de trasplantes de órganos, las neoplasias malignas originadas en las células del donador se han descrito después de trasplantes tanto de órganos sólidos como TCH¹⁻⁵. En el TCH las prevalencias de las neoplasias en células del donador han oscilado entre casos anecdóticos hasta cifras tan altas como del 5%¹ o más¹⁻². La evolución de la capacidad de analizar el quimerismo donador-receptor mediante los análisis moleculares por microsatélites (*short-tandem repeats*, STR), o por medio de citometría de flujo, ha permitido el análisis detallado de las diferentes poblaciones celulares hematopoyéticas del donador y del receptor después del TCH, por lo que la detección de las neoplasias originadas en el donador se ha incrementado en forma considerable¹⁻². Las recaídas leucémicas que ocurren en las células del donador, también llamadas LCD, posteriores a TCH alogénicos se han informado previamente en la literatura¹⁻³ y algunos autores consideran que su incidencia ha sido subestimada¹⁻²; los linfomas originados en las células del donador han sido menos estudiados⁴⁻⁵.

En este estudio hemos llevado a cabo de manera prospectiva la identificación del origen de la actividad leucémica postrasplante en sujetos sometidos a TCH alogénicas, empleando un método de acondicionamiento de intensidad reducida desarrollado en nuestro país y conocido como el «método Mexicano» para trasplantar la médula ósea (MO). Adicionalmente, los pacientes identificados de manera prospectiva como portadores de LCD fueron tratados de manera uniforme con QT combinada como si se tratara de leucemias *de novo*, ya que estrictamente son neoplasias malignas diferentes a las que motivaron los TCH alogénicas. Los resultados de hacer la identificación prospectiva de las LCD y de llevar a cabo el tratamiento de estas neoplasias empleando un esquema para leucemias *de novo* motivan esta comunicación.

Material y métodos

Pacientes

Se incluyeron todos los pacientes consecutivos trasplantados con células hematopoyéticas alogénicas en

la Clínica Ruiz de Puebla entre septiembre de 2002 y diciembre de 2013. Tanto de los receptores como de los donadores se obtuvo consentimiento por escrito y los procedimientos fueron autorizados por los comités de ética y de trasplantes de la institución.

Trasplantes

En todos los casos los donadores fueron hermanos HLA idénticos (6/6 antígenos HLA A, B y DR) o compatibles (5/6 antígenos). Todos los pacientes fueron trasplantados empleando el «método Mexicano» con acondicionamiento no ablativo⁶: Busulfán oral, 4 mg/kg los días -6 y -5; ciclofosfamida iv. 350 mg/m² los días -4, -3 y -2; fludarabina iv. 30 mg/m² los días -4, -3 y -2. Como profilaxis para enfermedad de injerto contra huésped (EICH) se emplearon ciclosporina A (CyA) oral 5 mg/kg a partir del día -1 y metotrexato iv 5 mg/m² los días +1, +3, +5, +11. La CyA oral se mantuvo hasta el día +180 con ajustes para obtener niveles séricos entre 150-275 ng/ml; posteriormente fue disminuida en un lapso de 30-60 días. Si se presentaba EICH la disminución de la CyA se hizo de manera más lenta⁶. Todos los pacientes se injertaron y se quimerizaron completamente. A todos los pacientes injertados se les hicieron estudios para definir el quimerismo empleando microsatélites o enumeración de cromosomas XY en los casos en que había incompatibilidad de género entre donador y receptor.

Estudios para definir el origen de la actividad leucémica postrasplante

A todos los pacientes quienes tuvieron actividad leucémica después de haberse trasplantado e injertado de manera exitosa se les hicieron de manera prospectiva estudios para definir el origen de las células leucémicas en la MO, la sangre periférica (SP) o el líquido cefalorraquídeo (LCR). En los casos con menos de 50% de blastos, las células neoplásicas se aislaron por medio de separación celular activada por fluoresceína (*fluorescence activated cell sorting*, FACS) mediante citometría de flujo y usando anticuerpos contra CD45 y CD10 marcados con isotiocianato de fluoresceína y ficoeritrina, respectivamente². Las células que expresaron CD45

tenue y CD10 intenso se seleccionaron por medio de una ventana electrónica con un citómetro de flujo EPICS Elite ESP (Coulter, Hialeah, FL). Al obtener una población de 100,000 células seleccionadas, su pureza se determinó por medio de reanálisis con el mismo instrumento y protocolo. Las células seleccionadas debían tener una pureza mayor al 99%. Se llevó a cabo la investigación de marcadores polimórficos (microsatélites) en las muestras celulares aisladas o no, de acuerdo al número de blastos: las células se aislaron con FACS si el número de blastos era menor del 50%².

Resultados

Pacientes y trasplantes

En la Clínica Ruiz de Puebla, entre septiembre de 2002 y diciembre de 2013 se trasplantaron con células hematopoyéticas alogénicas 106 pacientes con diversos tipos de leucemia: 62 leucemias agudas y 44 leucemias crónicas; en el grupo de leucemias agudas, 29 fueron LAL en segunda remisión. De los pacientes con LAL trasplantados, 12 tuvieron actividad leucémica después de haberse trasplantado e injertado de manera exitosa.

LCD

Se identificaron de manera prospectiva siete casos de LCD. Seis habían sido trasplantados por LAL y uno por hemoglobinuria paroxística nocturna/hipoplasia medular. Tres de los siete pacientes han sido reportados previamente^{2,3}. El promedio de edad de los pacientes quienes desarrollaron LCD fue de 16 años (3 a 36 años), hubo cinco mujeres. Los donadores fueron en todos los casos hermanos HLA idénticos (6/6 antígenos iguales, 6 casos) o compatibles (5/6 antígenos, un caso). La mediana de edad de los donadores fue de 16 años (con rango de 1 a 35). En tres casos hubo diferencia de género entre el receptor y el donador. La tabla 1 describe las características principales de los pacientes y de los donadores.

Seis de los siete casos desarrollaron LCD aguda linfoblástica B; uno desarrolló una variante de leucemia de células peludas de estirpe B³. La LCD apareció entre 1 y 40 meses después del alotrasplante, mediana de 10 meses. En los casos de los pacientes trasplantados por LAL en segunda remisión, las células leucémicas linfoblásticas del donador mostraron una expresión similar de los antígenos CD, con modificaciones menores (ver Tabla 1). El número de blastos cuando la LCD se hizo evidente fue superior al 50% en tres casos, en tanto que

el quimerismo fue mayor al 90% en seis de los siete casos; es decir, en todos los casos más del 90% de los glóbulos blancos eran provenientes del donador de las células hematopoyéticas trasplantadas. En los casos 2, 3, 4 y 7 se llevó a cabo la separación celular por medio de citometría de flujo^{2,3}, en tanto que en los tres pacientes restantes la magnitud de la infiltración leucémica en presencia de quimerismo completo reveló el origen en el donador de las células leucémicas que se hicieron aparentes en el postrasplante. El análisis del origen de las células leucémicas se hizo en la MO en tres casos, en la SP en 2 casos y en el LCR en 2 casos (ver Tabla 1). La demostración del origen de las células leucémicas que aparecieron en el postrasplante se hizo por microsatélites en todos los casos; en tres casos, adicionalmente se hizo por la enumeración de los cromosomas X e Y, cuando hubo incompatibilidad de géneros entre el donador y el receptor (pacientes 3, 4 y 5).

Tratamiento de las LCD

La paciente con leucemia de células peludas derivada de células del donador (paciente número 4) se ha mantenido estable sin ningún tratamiento y está viva 64 meses después del diagnóstico de LCD. A los restantes seis pacientes con LAL originada en células del donador se les administró tratamiento con QT combinada como si se tratara de LAL *de novo*, con un esquema inspirado en esquemas de poliquimioterapia cuyos detalles hemos publicado con anterioridad, así como los resultados de su empleo⁷. Se empleó en los seis casos de LAL en células de donador una modificación del esquema TOTAL XI⁷; en los casos 5 y 6, quienes tuvieron leptomeningitis leucémica, se empleó adicionalmente radioterapia a cráneo. Se logró la remisión completa (RC) de la LAL en tres de los seis pacientes; dos pacientes fallecieron por toxicidad 1 y 2 meses posteriores al inicio de la QT y un paciente falleció 30 meses posteriores al diagnóstico de LCD como resultado de actividad leucémica sin lograr la RC de la LCD. Tres de los seis pacientes con LAL tratados están vivos en RC 11, 12 y 98 meses posteriores al inicio del tratamiento de la LCD. En total, cuatro de los siete pacientes con LCD están vivos, siendo la supervivencia global de acuerdo a Kaplan y Meir⁸ de 54% a 98 meses (Fig. 1).

Discusión

Las neoplasias originadas en células del donador posteriores a TCH alogénicas son modelos únicos

Tabla 1. Características sobresalientes de los pacientes quienes desarrollaron leucemias en las células del donador

Caso	1	2*	3*	4†	5	6	7
Receptor							
Sexo	Hombre	Mujer	Mujer	Mujer	Mujer	Mujer	Hombre
Edad	3 años	6 años	36 años	34 años	9 años	16 años	23 años
Diagnóstico	LAL B recaída	LAL B recaída	LAL B recaída	HPN / Hipoplasia medular	LAL B recaída	LAL B recaída	LAL B recaída
Donador							
Sexo	Hombre	Mujer	Hombre	Hombre	Hombre	Mujer	Hombre
Edad	1 año	16 años	35 años	27 años	3 años	12 años	33 años
Compatibilidad	5 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6	6 / 6
EICHa	No	No	No	No	Sí	No	No
EICHc	No	No	-	Sí	No	Sí	No
LCD							
Tiempo postrasplante	6 meses	16 meses	1 mes	40 meses	10 meses	32 meses	9 meses
LCD	LAL B	LAL B	LAL B	LCP	LAL B	LAL B	LAL B
% células leucémicas al presentarse la LCD	65%, SP	17%, SP	35%, MO	3%, SP	100%, LCR	100%, LCR	10%, MO
% quimerismo al presentarse la LCD	79%	100%	97%	100%	100%	100%	100%
Células leucémicas							
Células leucémicas del receptor al diagnóstico	CD 10, CD 19, CD 20, CD 45	CD 10, CD 19, CD 20, HLA DR	CD 10, CD 19, CD 45	-	CD2, CD 10, CD 19, CD 20, CD 34, CD 45, CD 79	CD 10, CD 19, CD 20, CD 34, CD 45, CD 79a, HLA DR	CD 10, CD 19, CD 20, CD 34, CD 45, CD 79
Células leucémicas al desarrollarse la LCD	CD 10, CD 19, CD 20, CD 34, CD 38, CD 45	CD10, CD 19, CD34	CD 10, CD 19, CD 20, CD 34, CD 38	CD 11, CD 19, CD 20, CD 25, CD 103	CD 10, CD 19, CD 20, CD 34, CD 45, CD 58	CD 10, CD 19, CD 20, CD 34, CD 45, CD 58	CD 10, CD 19, CD 20, CD 34, CD 45, CD 58
Evidencia del origen del donador de las células leucémicas	MS	MS	MS, XY	MS, XY	MS, XY	MS	MS
Respuesta							
Tratamiento	QT	QT	QT	(-)	QT + RT	QT * RT	
Remisión	No	Sí	No	No	Sí	Sí	No
Estado actual	Muerto	Viva	Muerta	Viva	Viva	Viva	Muerto
Tiempo	30 meses	98 meses	1 mes	64 meses	12 meses	11 meses	2 meses

LAL: leucemia aguda linfoblástica; HPN: hemoglobinuria paroxística nocturna; EICHa: enfermedad de injerto contra huésped aguda; EICHc: enfermedad de injerto contra huésped crónica; LCD: leucemia en células del donador; CD: cluster designation (designación de clona); MS: microsatélites; XY: enumeración de células XX y XY; QT: quimioterapia; RT: radioterapia; LCP: leucemia de células peludas.

*publicado en la referencia número 2.

†publicado en la referencia número 3.

para el análisis de la evolución clonal de los tumores humanos *in vivo*. Algunos autores han sugerido que la aparición de neoplasias derivadas de las células del donador ocurre probablemente con mayor frecuencia

de lo que originalmente se consideraba^{1,2}, mientras que otros no apoyan esta teoría⁹. La demostración del origen en células del donador de una neoplasia postrasplante puede ser complicada, siendo esta una de

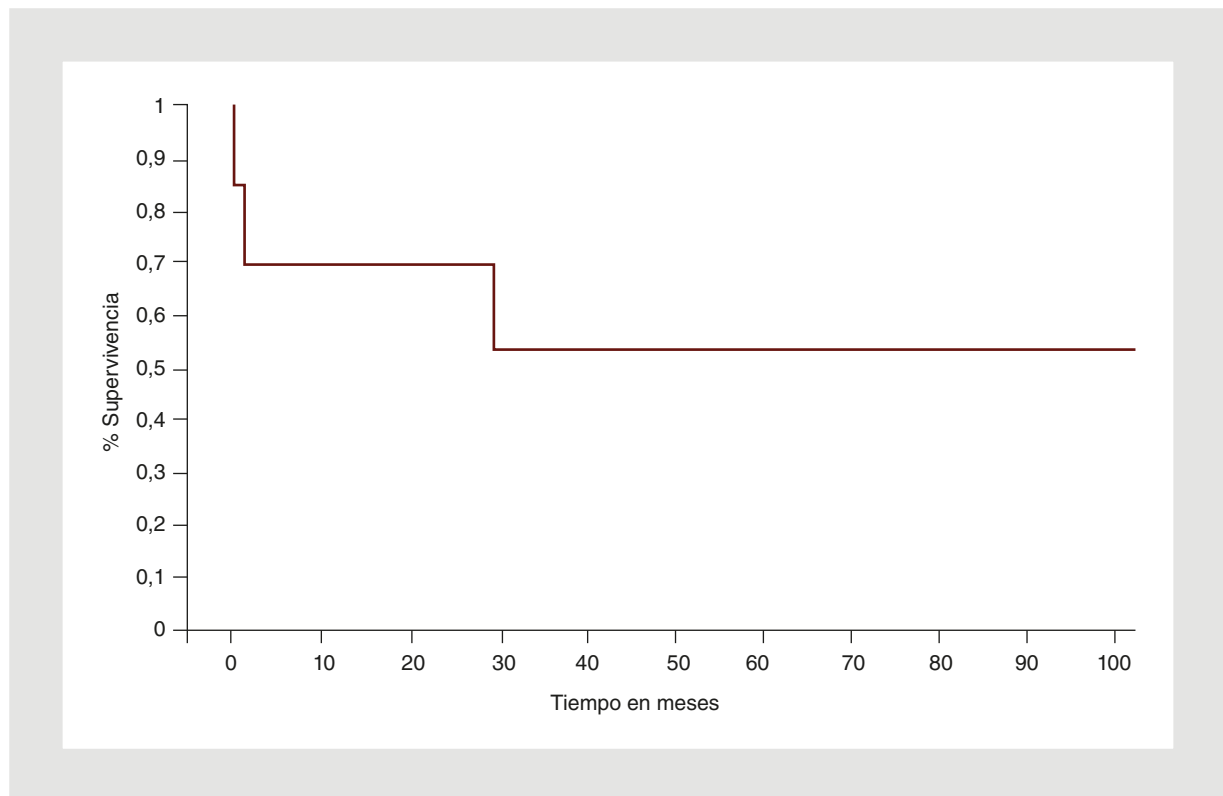


Figura 1. Supervivencia global según Kaplan y Meier⁸ de los siete pacientes con leucemia de células del donador identificados de manera prospectiva.

las razones probables de su identificación infrecuente. La investigación del origen de las células leucémicas que aparecen en el postrasplante en presencia de quimerismo no se lleva a cabo de manera rutinaria en las instituciones involucradas en la práctica de TCH, por lo que hemos considerado nosotros que su incidencia ha sido subestimada¹⁻³. No existen estudios prospectivos de la identificación de las LCD, siendo esta serie de pacientes la primera en buscar de manera intencionada y prospectiva el origen de las células leucémicas que aparecen en el postrasplante y que casi todos los médicos interpretan como recaída de la misma leucemia que motivó el trasplante sin llevar a cabo estudios del origen de las células malignas. Hertenstein, et al.¹⁰ describen 14 casos de LCD en un total de 10,489 TCH alogénicos llevados a cabo en Europa, cifra que equivale a una incidencia estimada de 124 LCD por cada 100,000 trasplantes. Este estudio sin embargo tiene sus limitantes, la más relevante es que los autores solicitaron a diversos centros de trasplante de MO información de los casos de LCD que hubieran identificado, por lo que el estudio no analizó prospectivamente la ocurrencia de esta complicación. Por otro lado, en un grupo de 40 pacientes

con leucemia aguda trasplantados en una sola institución y analizando prospectivamente el desarrollo de LCD considerando las características de las células leucémicas de todos los pacientes en la recaída, nosotros identificamos dos casos con esta complicación², lo que indica una mayor incidencia estimada de LCD por 100,000 trasplantes, si se compara con lo sugerido previamente¹⁰. Estas diferencias pueden explicarse porque en el estudio europeo los centros de trasplante fueron reclutados para brindar información en los casos que habían identificado¹⁰, mientras que en el otro nosotros investigamos de manera prospectiva el desarrollo de esta complicación². Otra diferencia es que en el estudio multicéntrico de Europa, los pacientes fueron trasplantados utilizando métodos de acondicionamiento mieloablativo⁹, en tanto que en nuestro estudio unicéntrico los pacientes fueron trasplantados utilizando un esquema de acondicionamiento de intensidad reducida². Desde que comenzamos a investigar rutinariamente la posibilidad de LCD en todos los pacientes con actividad leucémica posterior a trasplante alogénico, hemos encontrado siete casos de LCD en un total de 106 trasplantes. Es interesante señalar que en 62 casos de trasplante por leucemia aguda,

identificamos seis casos de LCD y que en el grupo de leucemias de 29 pacientes con LAL trasplantados, doce tuvieron actividad leucémica después de haberse trasplantado e injertado de manera exitosa, de los cuales seis fueron LCD y seis verdaderas recaídas de la leucemia del receptor. Los datos que presentamos aquí apoyan las observaciones que hemos hecho previamente sobre la subestimación de la incidencia real de las LCD¹⁻³, en un grupo más pequeño de pacientes hasta entonces trasplantados.

Desde el punto de vista de tratamiento, no hay estudios que de manera prospectiva analicen el tratamiento de las LCD; algunos pacientes con LCD han sido tratados exitosamente usando QT combinada, en tanto que otros han recibido un segundo trasplante^{1,2,9,10}. En general, el uso de QT para el tratamiento de la LCD puede inducir remisiones, pero la mortalidad asociada al tratamiento es alta; un segundo TCH puede inducir remisiones prolongadas en algunos pacientes². Dado que nosotros consideramos que las LCD son leucemias estrictamente *de novo*, decidimos utilizar de manera prospectiva un tratamiento similar para leucemias *de novo* en todos los pacientes con LCD linfoblástica, esquema que empleamos en seis de los siete casos que informamos, ya que el otro caso es una leucemia de células peludas que no ha ameritado tratamiento³. Con este tipo de tratamiento, obtuvimos RC en el 50% de los pacientes, quienes se encuentran vivos, libres de leucemia y quimerizados al 100% 11, 12 y 98 meses después de haber iniciado el tratamiento de las LCD. Dado que el quimerismo en estos pacientes siempre fue completo (superior al 90%), consideramos que no había razón para volverlos a trasplantar. Es interesante señalar que, como lo han señalado muchos estudios previos, los donadores cuyas células se leucemizan en el receptor no han desarrollado neoplasias y permanecen todos vivos en buenas condiciones de salud.

Las razones por las cuales las células hematopoyéticas normales de los donadores se leucemizan en el receptor no se conocen con detalle, pero se han señalado varios mecanismos posibles: Estímulo antigénico sostenido de las células linfoides, homeostasis aberrante que induce o promueve la transformación leucémica, vigilancia inmunológica deficiente, hibrida-

ción de las células trasplantadas normales con células malignas residuales del receptor, agentes infecciosos, mutagénesis causada por la QT, estrés replicativo, primer golpe en el donador seguido de un segundo golpe en el receptor, etc.¹. Estos mecanismos son discutidos de manera más extensa en otras publicaciones¹.

En resumen, en una sola institución y en un periodo de 12 años, hemos llevado a cabo un estudio para identificar de manera prospectiva a los pacientes quienes desarrollan LCD después de TCH alogénicas; nuestros hallazgos sugieren que la incidencia real de esta complicación ha sido subestimada. Adicionalmente y también de manera prospectiva, hemos tratado a los pacientes con LCD de estirpe linfoblástica con un mismo esquema terapéutico diseñado para pacientes con leucemia *de novo*, teniendo en cuenta que se trata de neoplasias distintas a las que motivaron los TCH alogénicas; los resultados de este tratamiento son halagüeños y sugieren que hasta el 50% de los pacientes con LCD pueden tener respuestas favorables y supervivencias prolongadas libres de leucemia.

Bibliografía

1. Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, Garcés-Eisele J. Donor cell leukemia: A critical review. *Leuk Lymphoma*. 2007;48:25-38.
2. Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Delgado GJ, Garcés-Eisele J, et al. Donor cell leukemia after non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation: A single institution experience. *Leuk Lymphoma*. 2006;47:1952-5.
3. Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Delgado GJ, Calderón-Meza E, et al. Donor-derived hairy cell leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2009;50:1712-4.
4. Kanamori Y, Kayukawa S, Kikuchi T, et al. Case report: A case of donor-derived diffuse large B-cell lymphoma after 24-year remission of acute myeloid leukemia followed by successful allogeneic bone marrow transplantation. *Nihon Naika Gakkai Zasshi*. 2013;102:721-3.
5. Weigert O, Kapp N, Lane AA, et al. Molecular ontogeny of donor-derived follicular lymphomas occurring after hematopoietic cell transplantation. *Cancer Discover*. 2012;2:47-55.
6. Gómez-Almaguer D, Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, et al. Hematopoietic stem cell allografts using a non-myeloablative conditioning regimen can be safely performed on an outpatient basis. *Bone Marrow Transpl*. 2000;25:131-3.
7. Ruiz-Delgado GJ, Macías-Gallardo J, Lutz-Presno J, et al. Outcome of adults with acute lymphoblastic leukemia treated with a pediatric-inspired therapy: A single institution experience. *Leuk Lymphoma*. 2011;52:314-6.
8. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimations from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*. 1958;53:457-63.
9. Wang E, Hutchinson CB, Huang Q, et al. Donor cell-derived leukemias / myelodysplastic neoplasms in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Am J Clin Pathol*. 2011;135:525-40.
10. Hertenstein B, Hambach L, Bacigalupo A, et al. Development of leukemia in donor cells after allogeneic stem cell transplantation – a survey of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Haematologica*. 2005;90:969-75.