

Trasplante de células hematopoyéticas de sangre periférica utilizando quimioterapia inmunosupresora sin destrucción de la médula ósea: “minitrasplante”

David Gómez-Almaguer,* Guillermo J. Ruiz-Argüelles,** Oscar González-Llano,* Alejandro Ruiz-Argüelles,* Olga G. Cantú-Rodríguez*

Recepción versión modificada 18 de julio del 2001; aceptación 24 de julio del 2001

Resumen

Empleando un esquema de acondicionamiento mielosupresor y no-mieloablativo, realizamos 17 trasplantes alogénicos de células hematopoyéticas de sangre periférica. Los donadores fueron hermanos HLA idénticos. Se empleó acondicionamiento con fludarabina (FLU) / busulfán / ciclofosfamida / ciclosporina / metotrexato o FLU / melfalán / ciclosporina / metotrexato. En el donador las células fueron movilizadas a la sangre periférica empleando filgrastim. La media de recuperación de >500 neutrófilos fue de 11 días (rango 9-21), y la de >20 000 plaquetas fue de 12 días (rango 10-27). Siete pacientes no necesitaron transfusiones. En trece pacientes (76%) el procedimiento fue extra-hospitalario. Los tiempos de vigilancia postrasplante oscilan entre 1 y 14 meses: 5/17 pacientes desarrollaron enfermedad injerto contra huésped (EICH) aguda y 4/10 EICH crónica. La supervivencia (SV) a 14 meses es de 70% y la mediana de SV no se ha alcanzado. Han fallecido 5 pacientes (29%), 3 por recaída de la neoplasia y dos por EICH. La mortalidad atribuible al trasplante fue de 5.8% ya que sólo un paciente falleció antes de los 100 días postrasplante. Es posible llevar a cabo los trasplantes alogénicos de manera extrahospitalaria y con menor toxicidad, empleando esquemas de acondicionamiento no-mieloablativos, lo que permite disminuir significativamente los costos y ofrecer esta alternativa terapéutica a pacientes que no puedan ser trasplantados de manera convencional.

Palabras clave: Trasplante alogénico, minitrasplante, no-mieloablativo, células hematopoyéticas.

Summary

Using a nonmyeloablative, immunosuppressive, fludarabine (FLU)-base conditioning regimen, we have performed allogeneic peripheral blood stem cell transplants in 17 patients (six with chronic granulocytic leukemia, four with acute myelogenous leukemia, five with acute lymphoblastic leukemia, one with myelodysplasia and one, with thalassemia major). Conditioning regimen consisted of FLU/busulfan/cyclophosphamide or FLU melphalan. To avoid graft vs. host disease (GVHD), cyclosporine and methotrexate were used. Median granulocyte recovery time to 0.5×10^9 was 11 days, whereas median platelet recovery time to 20×10^9 was 12 days. Seven patients did not need red blood cell transfusions and four did not need platelet transfusions. In thirteen individuals (76%), the procedure could be completed fully on an outpatient basis. Follow-up times range between 1 and 14 months. Five of 17 patients developed acute GVHD whereas 4/10 developed chronic GVHD. The 14-month survival (SV) is 70% and median SV is not reached. Five patients (29%) have died, three due to relapse of the disease and two due to GVHD. The transplant-related mortality was 5.8%. This procedure is substantially less costly than its counterpart, using in-hospital myeloablative conditioning regimens, and may represent another approach in management of patients requiring allogeneic stem cell transplant.

Key words: Allogeneic transplant, non-myoablative transplant, peripheral stem cells, minitransplant.

* Servicio de Hematología, Hospital Universitario de la UANL.

** Laboratorios Clínicos de Puebla.

*** Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla y Laboratorios Clínicos de Puebla.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. David Gómez-Almaguer Marco Tulio #532 Cumbres 3er. Sec. Monterrey, N.L. CP 64610 Tel: (8) 3 00 42 54 (8) 3 00 48 61 36 Fax: (8) 3 00 41 58 e-mail: dr_gomez@infosel.net.mx

Introducción

El trasplante de células hematopoyéticas requiere que las células del donador no sean rechazadas por el receptor, para ello se utiliza un esquema de acondicionamiento que tradicionalmente incluye quimioterapia que produce mielodestrucción o bien radio-quimioterapia. Esto permite la destrucción del tejido hematopoyético enfermo y suficiente inmunosupresión para evitar el rechazo del tejido trasplantado. Este sistema conlleva toxicidad importante para el receptor y obliga al uso de hospitalización, transfusiones y costos importantes derivados de las complicaciones inherentes al procedimiento. Nosotros hemos demostrado que la simplificación de los sistemas tradicionales de tratamiento en neoplasias hematológicas y trasplante de células hematopoyéticas, puede llevarse a cabo sin pérdida de la efectividad e incluso sin hospitalización.¹⁻⁴ En el presente trabajo se presentan los resultados de una nueva modalidad de trasplante que se basa en la inmunosupresión con mielodestrucción moderada, lo que ha sido denominado "minitrasplante", procedimiento notablemente menos tóxico y costoso que el tradicional.⁵⁻⁸

Pacientes y métodos

Pacientes y donadores

El cuadro I, muestra algunas de las características de los pacientes. Todos tuvieron una puntuación de Karnofsky de 100% al momento del procedimiento. El donador fue un hermano HLA idéntico en todos los casos. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes. El

trasplante no-mieloablativo fue aprobado en cada caso por el comité de trasplantes de médula ósea de la institución, previa verificación de que los pacientes no eran candidatos, por diferentes razones, a recibir un trasplante mieloablativo convencional.

Movilización de las células tallo y aféresis

Se administró factor estimulante de las colonias de los granulocitos (G-CSF) a los donadores los días -5 a +2. El procedimiento de aféresis fue realizado en los días 0 y +1 y de ser necesario +2 usando el protocolo de Spín-Nebraska.⁸ El punto final de la recolección fue procesar 5000 a 7000 ml de sangre/m² en cada uno de los procedimientos de aféresis hasta obtener al menos 5 X 10⁸ células mononucleares/kg del receptor.^{3,5,8,9}

Acondicionamiento y trasplante

Se empleó una modificación de los esquemas de acondicionamiento descritos por Giralt y cols.¹⁰ y Slavin y cols.¹¹ En 11 pacientes se usó busulfán 4 mg/Kg los días -6 y -5, ciclofosfamida IV 350 mg/m² en los días -4,-3 y -2, fludarabina IV 30 mg/m², en los días -4,-3 y -2. La ciclosporina A 3 a 5 mg/Kg fue iniciada el día -1 y se usó metotrexate 5 mg/m² los días +1,+3,+6 y +11. En 6 pacientes no se utilizó busulfán ni ciclofosfamida y en su lugar se utilizó melfalán 70 mg/m² por vía intravenosa los días -7 y -6, en ellos la fludarabina IV 30 mg/m² se administró en los días -6 a -1. La administración de ciclosporina oral continuó hasta el día 100, con ajustes de la dosis de acuerdo con las determinaciones séricas y posteriormente fue disminuida gradualmente a lo largo

Cuadro I. Características y resultados de los pacientes trasplantados

Paciente	Edad	Diagnóstico	EH	EICHa	EICHe	Estado	Mes
1	15	Talasemia	+	NO	NO	V,RC	14
2	57	LGC	-	NO	SI	M,REC	6
3	61	LGC	-	SI	SI	M,EICH	2
4	45	LGC	+	NO	SI	V,RC	11
5	54	LGC	+	NO	NO	M,REC	8
6	14	LAM-M2	+	NO	NO	V,RC	8
7	10	LAL-L2	+	NO	NO	M,REC	4
8	51	LAM-M5	+	NO	NO	V,RC	5
9	39	MDP	+	SI	SI	M,EICH	3.5
10	39	LAL-L2	+	NO	NO	V,RC	4
11	4	LAL-L2	+	NO	NO	V,RC	4
12	52	LAM-M5	+	NO	-	V,RC	3
13	41	LAL-L2	-	SI	-	V,RC	3
14	37	LGC	+	NO	-	V,RC	3
15	24	LGC	-	SI	-	V,RC	3
16	19	LAL-L2	+	SI	-	V,RC	3
17	46	LAM-M4	+	NO	-	V,RC	1

EH: extrahospitalario, EICHa: enfermedad injerto contra huésped aguda, EICHe: enfermedad injerto contra huésped crónica, LGC: leucemia granulocítica crónica, LAM: leucemia aguda mieloblástica, LAL: leucemia aguda linfoblástica, MDP: mielodisplasia, V: vivo, M: muerto, RC: remisión completa, REC: recaída.

de 30 a 60 días. En todos los pacientes se usaron también antieméticos postquimioterapia, y como prevención contra infecciones ciprofloxacino e itraconazol o fluconazol orales. Los antibióticos y los antimicóticos se usaron hasta que la cuenta de granulocitos se recuperó por arriba de $500/\mu\text{L}$. Si el receptor o el donador tenían anticuerpos anticitomegalovirus se utilizó ganciclovir por 100 días, en el resto se utilizó acyclovir por 20 días. Los productos de la aferesis fueron infundidos a los receptores los días 0, 1 y 2.

Estudios en los productos de aféresis

La cuantificación de leucocitos, células mononucleares y células con antígeno CD34 se hizo por citometría de flujo,¹² en un aparato EPICS Elite ESP (Coulter Electronics Hiialeah, FL), usando el anticuerpo monoclonal HPCA-2, anti CD-34,¹³ (Beckton Dickinson, San José CA).¹⁰

Estudios de quimerismo

En los casos con donadores de sexo distinto se utilizó hibridación *in situ* por fluorescencia para demostrar la presencia de los cromosomas X y Y,¹⁴ en los casos con disparidad ABO se realizó determinación de antígenos del sistema ABO en eritrocitos mediante citometría de flujo y en los demás casos se investigaron microsatélites por polimorfismo de gametos de restricción.^{14,15} Estos estudios fueron realizados a los 30 y 60 días del trasplante alogénico.

Resultados

Se trasplantaron 17 pacientes: 6 tenían leucemia granulocítica crónica con fusión BCR/ABL, cuatro tenían leucemia mieloide aguda en primera remisión, 4 tenían leucemia linfoblástica aguda en segunda remisión, uno con leucemia linfoblástica aguda BCR/ABL en primera remisión, uno con mielodisplasia y uno con talasemia mayor. La edad promedio fue de 39 años, con edades entre los 4 y los 61, 4 pacientes eran mujeres. Se transfundieron en promedio 10.8×10^8 Kg de células mononucleares, con una media de 4.9×10^6 de células CD34. La media del tiempo de recuperación de los granulocitos por encima de 0.5×10^9 /L fue de 11 días, mientras que la media del tiempo de recuperación de plaquetas por encima de 20×10^9 /L fue de 12 días. La media de paquetes globulares transfundidos fue de 1 (intervalo 0-7) y la media de concentrados plaquetarios fue de 1 (intervalo 0-10). Siete pacientes no requirieron transfusiones de glóbulos rojos y 4 no requirieron con-

centrados plaquetarios. En 13 (76%) pacientes el procedimiento se llevó a cabo de manera totalmente extrahospitalaria. Aquellos pacientes en los que no fue posible su permanencia en su casa u hotel fueron hospitalizados. Sólo dos pacientes necesitaron ser hospitalizados por ictericia y diarrea secundarias a enfermedad de injerto contra huésped, el resto de los pacientes, no desarrolló fiebre, neutropenia, enfermedad veno-oclusiva, mucositis, diarrea o náusea graves que hubieran sido motivo de internamiento. El tiempo de seguimiento fue de 1 a 14 meses. Cinco de los pacientes presentaron enfermedad aguda de injerto contra huésped, mientras que 4 desarrollaron formas crónicas de enfermedad de injerto contra huésped. La supervivencia a 14 meses fue de 70% y la mediana de supervivencia no se ha alcanzado. Cinco de los pacientes murieron, tres de ellos por recaídas de las neoplasias y dos por enfermedad de injerto contra huésped. La mortalidad relacionada con el trasplante fue de 5.8%. Todos los pacientes vivos permanecen en remisión. Todos los pacientes con leucemia granulocítica crónica que presentaron BCR/ABL se hicieron negativos para el marcador molecular de la enfermedad; el paciente con leucemia linfoblástica aguda que fue positivo para BCR/ABL permanece también en remisión molecular.

Discusión

En la actualidad es posible llevar a cabo trasplantes tanto autólogos como alogénicos de células hematopoyéticas, tipo "mini" sin grandes complicaciones, con costo menor al habitual, de manera totalmente extrahospitalaria incluso en pacientes mayores de 50 años.³⁻⁷ Estos datos indican que, usando esquemas de acondicionamiento no mieloablatoivo, es posible llevar a cabo trasplantes alogénicos de células hematopoyéticas y obtener resultados adecuados y similares a los de los programas de trasplante de médula ósea por métodos tradicionales. Los esquemas de acondicionamiento no mieloablatoivos se basan en el concepto de que las células del donador se establecen en la médula ósea del receptor y sustituyen gradualmente la hematopoyesis en el paciente. Esto mediante el efecto de injerto contra huésped que además, es el responsable del control o destrucción de la neoplasia por el efecto de injerto contra leucemia o injerto contra tumor.^{10-11,16-17} Los trasplantes alogénicos convencionales pueden llegar a tener una mortalidad del orden del 30-50% especialmente en pacientes debilitados o de edad mayor a 50 años, en tanto que este tipo de "minitransplantes" tiene una mortalidad menor del 10%.^{3,4} Es claro que ahora se pueden llevar a cabo trasplantes no mieloablatoivos en pacientes de edad avanzada o en aquéllos, aún jóvenes, en los que no es posible usar los

esquemas de acondicionamiento convencionales.¹⁸ Disminuir el costo de los procedimientos terapéuticos es muy importante en los países en desarrollo, en los que sólo un pequeño número de pacientes tienen acceso a estos tratamientos tan costosos.¹⁹⁻²¹ De acuerdo con lo que se informa, el costo de estos procedimientos puede disminuirse sin comprometer su eficacia. El costo aproximado de todo el procedimiento de trasplante alogénico no mieloablatoivo fue de 18 000 dólares americanos.^{5,22} Es claro que este tipo de trasplantes extrahospitalarios requieren de ciertas características de los pacientes: deben tener un nivel sociocultural adecuado, deben estar asintomáticos, activos y con posibilidad de permanecer en su domicilio o en un hotel al cuidado de sus familiares. Sin embargo, aun en caso de hospitalización electiva para llevar a cabo el trasplante, los costos son comparativamente mucho más bajos, ya que se requiere muy poca terapia de apoyo y sufren menos complicaciones infecciosas, lo cual permite trasplantar pacientes que tal vez en circunstancias normales no tendrían esta opción potencialmente curativa.

Finalmente, no podemos dejar de señalar que el grupo estudiado es pequeño y el seguimiento relativamente corto, además los efectos a largo plazo del régimen de acondicionamiento inmunosupresor no mieloablatoivo que nosotros hemos utilizado no se conocen, ni tampoco los datos acerca de la prevalencia y la gravedad del efecto de injerto-contra-huésped, y la posible incidencia de recaídas de las neoplasias después del trasplante no mieloablatoivo. Por lo anterior queda claro que se necesitan más estudios para definir si este método puede ser en un futuro otra opción terapéutica realmente eficaz para estos pacientes y de ser un procedimiento experimental en evaluación, pase a ser un método terapéutico convencional en nuestro país.

Referencias

1. **Ruiz-Argüelles GJ, Apreza-Molina MG, Alemán Hoey DD, Gómez-Almaguer D, Mann-López A, Mercado-Díaz L.** Outpatient supportive therapy after induction to remission therapy in adult myelogenous leukemia (AML) is feasible: a multicentre study. *Eur J Haematol* 1995;54:18-20.
2. **Ruiz-Argüelles GJ, Lobato-Mendizábal E, Delgado-Llamas JL, Gómez-Almaguer D.** All trans-retinoic acid decreases early mortality in patients with promyelocytic leukemia and can be given entirely on an outpatient basis. *Am J Hematol* 1999;62:139-143.
3. **Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B, Marín-López A, Delgado-Llamas JL.** Non-cryopreserved peripheral blood stem cells autotransplants for hematological malignancies can be performed entirely on an outpatient basis. *Am J Hematol* 1998;58:161-164.
4. **Ruiz Argüelles GJ, Lobato-Mendizábal E, Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B, Arizpe-Bravo D, Mann-López A.** Non-cryopreserved unmanipulated hematopoietic peripheral blood stem cell autotransplant program. *Arch Med Res* 1999;30:380-384.
5. **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 Transplant* 2000;25:131-33.
6. **Gómez-Almaguer D, Ruiz Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, González-Llano O, Cantú OG, Hernández NE.** Hematopoietic stem cell allografts using a non-myeloablative conditioning regimen can be safely performed on an outpatient basis. *Blood* 1999;94 (Suppl 1): 382b.
7. **McSweeney P, Niederveiser D, Shizuru J, Molina A, Wagner J, Minor S, et al.** Outpatient allografting with minimally myelosuppressive, immunosuppressive conditioning of low dose TBI and post-grafting cyclosporine and mycophenolate mofetil. *Blood* 1999;94(suppl 1):393a.
8. **Kessinger A, Armitage JO, Landmark JD, Smith DM, Weisenburger DD.** Autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation restores hemopoietic function following marrow ablative therapy. *Blood* 1998;71:723-727.
9. **Ruiz Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B, Marín-López A, Larregina-Diez A, Apreza-Molina MG.** Filgrastim-mobilized peripheral-blood stem cell can be stored at 4 degrees and used in autografts to rescue high-dose chemotherapy. *Am J Hematol* 1995;48:100-103.
10. **Giralt S, Estey E, Albitar M, van Besien K, et al.** Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. *Blood* 1997;89:4531-4536.
11. **Salvin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y et al.** Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematological diseases. *Blood* 1998;91:756-763.
12. **Ruiz-Argüelles A.** Flow cytometry in the clinical laboratory. Principles, applications and problems. *Ann Biol Clin* 1992;50:735-743.
13. **Ruiz-Argüelles A, Orfao A.** Caracterización y evaluación de células totipotenciales en sangre periférica y de médula ósea. In Ruiz-Argüelles GJ, San Miguel JF (editors): *Actualización en leucemias*. Editorial Médica Panamericana. México, city 1996. Pp 79-82.
14. **Pinkel D, Straume T, Gray JW.** Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;2934-2938.
15. **Yam P, Petz L, Knowlton R, Wallace R, Stock A, deLange G, et al.** Use of DNA restriction fragment length polymorphism to document marrow engraftment and mixed hematopoietic chimerism following bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987;43:399-407.
16. **Khoury IF, Keating M, Korbling M, Przepiorka D, Anderlini P, O'Brien S et al.** Transplant-lite: induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol* 1998;16:2817-2824.
17. **Carella AM, Lerma E, Dejana A, Corsetti MT, Celesti L, Bruni R, et al.** Engraftment of HLA-matched sibling hematopoietic stem cells after immunosuppressive conditioning regimen in patients with hematologic neoplasias. *Haematologica* 1998;83:904-909.

18. **Champlin R.** Nonmyeloablative chemotherapy with allogeneic hematopoietic transplantation as adoptive immunotherapy for malignancies. In: Schechter GP, Hoffman R, Schrier SL. Hematology 1999. The American Society of Hematology Education Program Book. Washington,DC. USA 1999. pp.413-416.
19. **Chandy M.** Management of hematological diseases in developing countries: socio-economic aspects. In Schechter GP, Hoffman R, Schrier SL. Hematology 1999. The American Society of Hematology Education Program Book. Washington ,USA. 1999. PP 73-76.
20. **Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Reyes G.** El tratamiento de las leucemias en países en desarrollo. In Ruiz-Argüelles GJ, San-Miguel JF (editors). Actualización en Leucemias. Editorial Médica Panamericana. México City, México. 1996. PP. 147-151.
21. **Gómez-Almaguer D, Ruiz-Argüelles G. Ruiz-Argüelles A, Piñero LA.** Dos casos de trasplante heterólogo con sangre periférica. Rev Invest Clin Mex 1997;49:41-45.
22. **Thomas ED.** Hematopoietic stem cell transplantation. Sci Am 1995;272:38-47.

