



**UNIVERSIDAD POPULAR  
AUTONOMA DEL ESTADO DE  
PUEBLA**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**EL TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS  
HEMATOPOYÉTICAS SE PUEDE HACER ENTRE  
HERMANOS HLA IDÉNTICOS Y COMPATIBLES  
EMPLEANDO EL ESQUEMA "MEXICANO" DE  
ACONDICIONAMIENTO NO-MIELOABLATIVO**

**TESIS PROFESIONAL**

**PRESENTA: BRICEIDA LOPEZ MARTINEZ**

**PARA OBTENER EL TITULO DE:  
ESPECIALIDAD EN PATOLOGIA CLÍNICA**

**TUTOR: DR. GUILLERMO J. RUIZ ARGÜELLES**

**FEBRERO 2006**



**UPAEP – Secretaría General**

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

**Tesis Digitales Restricciones de uso:**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

- Aprendí que todos los conocimientos tienen una finalidad.**
- Aprendí que la abundancia económica no es abundancia espiritual.**
  - Aprendí que la vida de los otros, no es la mía.**
  - Aprendí que callar en ocasiones es mejor que parlotear.**
  - Aprendí que la tolerancia es aceptar aquello que más me disgusta.**
  - Aprendí que la paciencia es la única que permite alcanzar las metas.**
  - Aprendí que detrás de un suceso hay una acción.  
Aprendí que seguiré aprendiendo**

**GRACIAS**

**FAMILIA RUIZ ARGÜELLES.**

**LABORATORIOS CLINICOS DE PUEBLA**

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS**

**Por la vida que me ha dado y por las grandes personas que  
me ha puesto en el camino.**

***Mi lista de agradecimientos es ilimitada, y solo puedo mencionar aquí  
algunos nombres.***

**Al Dr. Francisco Javier Sánchez Anzaldo por su apoyo y confianza  
para realizar esta especialidad.**

**GRACIAS**

## INDICE

RESUMEN	5
ANTECEDENTES GENERALES	7
Historia del trasplante	7
Historia del trasplante en México	13
Trasplante no-mieloablativo	15
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
OBJETIVOS	20
PACIENTES Y MÉTODOS	21
RESULTADOS	24
FIGURAS Y TABLAS	25
DISCUSIÓN	30
BIBLIOGRAFIA	33

## RESUMÉN

El trasplante alogénico de células totipotenciales hematopoyéticas (CTH) con esquemas de acondicionamiento mieloablativo, es un tratamiento válido para diversas enfermedades de la médula ósea, tanto malignas como benignas<sup>1,2</sup>.

Los esquemas de acondicionamiento con dosis altas de quimio y/o radioterapia tienen una mortalidad elevada asociada al trasplante, así como una incidencia alta de enfermedad de injerto contra huésped (EICH). Varios grupos de investigadores en todo el mundo han desarrollado esquemas de acondicionamiento de intensidad reducida, con efectos linfoablativos, que no tienen las toxicidades del acondicionamiento mieloablativo intenso<sup>3,4</sup>.

Usando el esquema "Mexicano" de acondicionamiento no mieloablativo para hacer trasplantes de células totipotenciales hematopoyéticas (CTH) alogénicas, realizamos de manera prospectiva 58 trasplantes en individuos con varias enfermedades hematológicas malignas y no malignas usando donadores hermanos, ya sea HLA idénticos (6/6) o compatibles, con sólo una diferencia antigénica (5/6). Al comparar los resultados de los trasplantes hechos con donadores HLA idénticos (n=40) *versus* HLA compatibles (n=18), respectivamente, la mediana de supervivencia fue de 33 *versus* 8 meses ( $p < 0.01$ ), la supervivencia a 52 meses fue de 47% *versus* 38% ( $p < 0.2$ ), la prevalencia de enfermedad aguda de injerto contra huésped (EICH) de 57% *versus* 38%, la de EICH crónica de 25 % *versus*

11% y el porcentaje de recaídas de 45% *versus* 55 %. Los dos pacientes quienes rechazaron el injerto fueron HLA compatibles (5/6). A pesar de una tendencia mejor para los pacientes trasplantados de hermanos HLA idénticos, las diferencias no fueron significativas, por lo que se concluye que, usando este esquema de acondicionamiento, es posible trasplantar a pacientes con donadores relacionados tanto idénticos (6/6) como compatibles (5/6).

## **ANTECEDENTES GENERALES**

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH), antes conocido como trasplante de médula ósea es en la actualidad un procedimiento terapéutico, que con el tiempo ha tomado su lugar como una opción para padecimientos malignos, no malignos y metabólicos que antes no la tenían <sup>(5)</sup>.

Después de las primeras experiencias con el trasplante de médula ósea (TMO) realizado por el Dr. *E. Donnall Thomas* en la década de los 50, se inicia su expansión en la década de los 70,<sup>5</sup> para experimentar un espectacular desarrollo en los años 80 y 90. En el año 2000 se realizaron cerca de 30 000 trasplantes en el mundo, de ellos el 70 % fueron autólogos y el 30 % alogénicos. La sangre periférica (SP) fue la fuente de progenitores hematopoyéticos en el 90 % de los trasplantes autólogos y en el 30 % de los alogénicos. <sup>6</sup>

## **HISTORIA DEL TRASPLANTE.**

Los experimentos en los que se basó el TMO humano se efectuaron en ratones hace más de 40 años, aunque se conoce que en el siglo pasado en 1891, *Brown* le administraba a sus pacientes MO por vía oral, como tratamiento para trastornos hematológicos.<sup>7</sup>

En 1939, *Rasjek y Osgood* administraron a sus pacientes MO intramedular

y endovenosa para el tratamiento de leucemias y aplasia medular. También en este año se realizó el primer intento de recuperar la hematopoyesis mediante la administración de transfusiones en un paciente con anemia aplásica, así como una pequeña cantidad de MO de su hermano, sin mediar ningún tratamiento condicionante previo. <sup>8</sup>

En 1949, con los estudios de *Jacobson* y colaboradores, se demostró que los ratones irradiados letalmente, podían recuperar su hematopoyesis normal si se protegía el bazo de las radiaciones, lo que demostraba el papel de este órgano como parte del sistema hematopoyético. <sup>9</sup>

Después que se identificó a la aplasia medular producida por irradiación como una causa importante de muerte en la población japonesa expuesta a los efectos radiactivos de las explosiones de las bombas atómicas, se aceleraron las investigaciones en animales relacionadas con la cantidad de irradiación corporal que era necesaria para provocar aplasia medular, y se establecieron las bases para una aplicación clínica más racional del TMO. Poco tiempo después, en 1951, *Lorenz* y colaboradores describieron que con la infusión de células de la MO de otro ratón, se podían rescatar los ratones sometidos a irradiación letal.<sup>10,11</sup> Estos experimentos iniciales parecían demostrar que la protección a las radiaciones se debía a factores humorales. Sin embargo, *Barnes* y *Loutit* en 1954, revisando sus propios experimentos y otros realizados, concluyeron que la hipótesis química

debía ser remplazada por la celular.<sup>12</sup>

Los intentos iniciales de aplicar este método a pacientes con enfermedades hematológicas graves fueron un fracaso, ya que se desconocía la importancia de la similitud de los antígenos de histocompatibilidad entre el donante y el receptor, y la necesidad de tratamiento inmunosupresor intenso.

Los anticuerpos inducidos por transfusiones y embarazos que reaccionaban con los antígenos presentes en los leucocitos humanos, fueron descritos inicialmente por *Miescher y Fauconnet* en 1954<sup>13</sup>. Más tarde, *Dausset y Van Rood* en 1958, utilizaron estos anticuerpos para describir los grupos de antígenos de leucocitos humanos (HLA).<sup>14,15</sup>

En los años 50 se realizaron casi 200 trasplantes alogénicos de MO en humanos, sin éxito a largo plazo. Sin embargo, durante este tiempo, se obtuvieron resultados satisfactorios con el trasplante de gemelos idénticos, que sirvieron de base para el desarrollo de este proceder.<sup>16</sup>

En 1959 se utilizaron dosis letales de irradiación corporal total (ICT) y MO de un gemelo idéntico, para trasplantar 2 pacientes con leucemia linfocítica aguda (LLA) avanzada, con recuperación de la hematopoyesis en algunas semanas, pero los pacientes murieron de enfermedad progresiva.<sup>17</sup>

En 1965, *Santos y Owens*<sup>18</sup> comunicaron que la ciclofosfamida (CFM) era un potente inmunosupresor en modelos murinos. Como este medicamento

era conocido por su efecto antileucémico, el grupo de Seattle administró 60 mg/kg durante 2 días antes de administrar la ICT, y con este régimen se obtuvieron los primeros receptores con sobrevida a largo plazo.

El primer intento de trasplante alogénico de MO en humanos se llevó a cabo en los años 60 por *E. Donnall Thomas*,<sup>19</sup> por lo que recibiría el premio Nobel de Medicina en 1990.

A finales de la década de los 60, existía ya un soporte adecuado de plaquetas, una mejoría en el tratamiento antibiótico y un desarrollo mayor de agentes antineoplásicos efectivos. Los primeros trasplantes alogénicos exitosos ocurrieron en 1968 y 1969, donde 2 pacientes que presentaban inmunodeficiencias congénitas y uno con enfermedad de Wiskott Aldrich sobrevivieron al procedimiento.<sup>20, 21</sup>

Posteriormente hubo una aceptación gradual de esta práctica durante los años 70.<sup>22</sup>

Los primeros trasplantes autólogos en humanos se realizaron en 1950 por *Kurnick* y col.,<sup>23</sup> y por *McGovern* y col. en 1959.<sup>24</sup> Estos implantes parecían proteger contra la toxicidad medular, pero su beneficio clínico era incierto, debido a la falta de remisión en la enfermedad de base. El trasplante autólogo fue utilizado exitosamente, primero en pacientes con linfomas en los años 70, y su uso se amplió en todo el mundo en la década de los 80.<sup>25</sup>

Los inicios del trasplante de SP fueron en 1962, cuando *Goodman* y *Hodgson* demostraron la existencia de CPH en la sangre de los ratones,<sup>26</sup> las que podían recolectarse de forma exitosa, cuando comenzó a desarrollarse la tecnología de la citocentrifugación. Esta fuente de CPH se comenzó a utilizar en pacientes en los que no se podían obtener células progenitoras medulares, debido a su enfermedad de base o a irradiación previa, y su uso se amplió después de descubrir que los factores de crecimiento hematopoyéticos causaban una liberación transitoria de CPH en la SP. de esta forma, en 1981 se introdujo la SP como fuente de CPH.<sup>27</sup>

La demostración de la presencia de CPH en el CU sugirió el uso de estas células para la realización de los TCPH y el primer trasplante exitoso de esta fuente se publicó por *Gluckman* y otros en 1989.<sup>28</sup>

Debido a la poca probabilidad de encontrar un donante familiar compatible, se realizaron los primeros TCHP no relacionados en los años 70.<sup>29</sup> La heterogeneidad de los haplotipos HLA hizo necesaria la realización de grandes paneles de donantes, hasta la existencia hoy del registro internacional de donantes, no familiares.

Una de las hipótesis para realizar los TCPH en las leucemias, es que la curación depende en gran medida del efecto injerto contra leucemia, más que del régimen de acondicionamiento, y por lo tanto, es posible lograr un

control de la enfermedad a largo plazo, con regímenes menos agresivos. Esto sentó las bases para la introducción en la década de los 90, del trasplante no mieloablativo o también llamado "mini-trasplante".<sup>30,31</sup>

Generalmente el TCPH se hace empleando esquemas de acondicionamiento mieloablativos, que tienen como objetivo tanto crear un espacio para alojar a las CTH del donador como eliminar las células neoplásicas residuales. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que es posible lograr el injerto de las CTH en el receptor sin destruir su médula ósea y que las mismas CTH del donador crean su propio espacio por medio del efecto de injerto contra huésped, el que tiene también un componente de efecto de injerto contra tumor.

## **LA HISTORIA DEL TRASPLANTE EN MEXICO**

El Dr. Ruiz Argüelles divide la historia del trasplante en México en dos etapas. La primera etapa se inicia en el año de 1980 cuando se llevó a cabo el primer TCPH en México, que hicieron el Dr. Ricardo Sosa y sus colaboradores, en el Instituto Nacional de la Nutrición en la ciudad de México. Después de este trasplante, se hicieron algunos otros aislados en el Centro Médico Nacional, en el Hospital Universitario de Monterrey, en el propio Instituto Nacional de la Nutrición y en otros sitios, con resultados pobres. Esto dio como resultado que en varias instituciones médicas del país se suspendieran de manera transitoria los programas de TCPH. En México la práctica de los TCPH fue casi anecdótica hasta antes de 1995. La segunda etapa se inició a partir de 1995, con la llegada de algunos médicos entrenados en la práctica de los TCPH. Otra causa por la que se reactivaron los programas de TCPH, fue la evolución de los conocimientos en esta área: a) se comenzaron a usar CPH de sangre periférica en vez de médula ósea; b) se hicieron simplificaciones de los métodos para llevar a cabo los trasplantes, y c) se inició la práctica de los alotrasplantes con esquemas de acondicionamiento no mieloablativo.<sup>39</sup>

## **MINITRASPLANTE O TRASPLANTE NO MIELOABLATIVO**

A partir de 1997, varios investigadores en Houston<sup>32</sup>, Jerusalén<sup>33</sup> y Génova<sup>34</sup> demostraron que para llevar a cabo los trasplantes alogénicos de células progenitoras hematopoyéticas no era necesario hacer la

destrucción total de la médula ósea del receptor, sino que la propia médula del donador es la que a través del efecto de injerto contra huésped (EICH), crea su propio espacio en la cavidad medular del receptor debidamente inmunosuprimido. Este efecto de EICH es a su vez el responsable de la erradicación de algunas de las enfermedades malignas por las que se llevan a cabo los trasplantes alogénicos de médula ósea. Los esquemas de preparación del receptor para llevar a cabo estos trasplantes alogénicos no-mieloablativos (TANM) empleados en Houston, Jerusalén y Génova incluyen fármacos que no se consiguen en el país como melfalán endovenoso y globulina equina anti-timocito. Con el objeto de poder hacer estos trasplantes en México y empleando los medicamentos disponibles en el país, en enero de 1999 se inicia de manera coordinada entre el Hospital Universitario de Monterrey y el Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla a cargo del DR. Guillermo Ruiz Argüelles un programa de trasplantes alogénicos de células totipotenciales hematopoyéticas, empleando esquemas de acondicionamiento no mieloablativos<sup>35</sup>

Las razones fundamentales para iniciar un programa de este tipo de trasplantes fueron en su momento dos:

a) La morbimortalidad de los trasplantes alogénicos de médula ósea convencionales era muy alta en todo el mundo y aún más en nuestro país, ya que, por razones diversas, en varios centros de atención médica nacionales no se contaba con todas las instalaciones y medios necesarios

para llevar a cabo este tipo de trasplantes.

b) Los costos de los trasplantes alogénicos de médula ósea convencionales, realizados tanto en el extranjero como en el país eran muy altos e inaccesibles para la mayoría de los pacientes mexicanos quienes los requerían.

Ante esta problemática, los pacientes mexicanos quienes necesitaban de un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas tenían pocas opciones: Se trasplantaban fuera del país si lograban reunir el costo de un trasplante convencional: 300 000.00 dólares en la Unión Americana <sup>36</sup>, se trasplantaban en el país con costos menores pero con riesgos de morbilidad muy altos, superiores al 50% <sup>36</sup> o, aún peor, optaban por continuar con tratamientos menos eficaces que el trasplante de CPH.

El "Método Mexicano" para llevar a cabo los TANM llamado así por el Dr. Guillermo Ruiz Argüelles y col. supone las siguientes modificaciones <sup>37,38</sup> en relación a otros esquemas de acondicionamiento no mieloablativo: 1) Empleamos sólo medicamentos accesibles y disponibles en el país; 2) Hacemos los trasplantes fuera del hospital siempre que es posible; 3) Se hacen el menor número posible de sesiones de aféresis en el donador; 4) Empleamos la menor cantidad posible de medicamentos profilácticos de

infecciones; 5) Usamos infusiones de linfocitos del donador sólo en casos extremos <sup>37,38</sup>.

La accesibilidad y eficiencia de este método ha dado como resultado que varias instituciones del país, entre ellas el Centro Médico la Raza del IMSS y el Instituto Nacional de Cancerología, lo usen y que además, se haya adoptado como el método de referencia por el grupo LACOHG (Latin-American Cooperative Onco-Hematology Group). <sup>39</sup>

## **ANTECEDENTES ESPECÍFICOS**

De la misma forma que en una transfusión de sangre el donante y el receptor necesitan ser compatibles en el grupo sanguíneo del Sistema ABO, en un trasplante de órganos o de células progenitoras hematopoyéticas, ambos necesitan ser compatibles en el Sistema HLA, o de Antígenos Leucocitarios Humanos (sigla en inglés: HLA).

La respuesta alogénica es estimulada por diferencias tanto del donador como del receptor en sus antígenos mayores y menores, esto está mediado por antígenos leucocitarios humanos (HLA) ubicados en el Complejo Principal de Histocompatibilidad.

Los antígenos clase I y II son la barrera inmunológica más importante para la realización de TCPH. La función fisiológica de las moléculas HLA es la de procesamiento y presentación de péptidos antigénicos a los linfocitos T citotóxicos y cooperadores.

Los Antígenos Leucocitarios Humanos - HLA son moléculas que se encuentran en los glóbulos blancos (o leucocitos) de la sangre y en la superficie de casi todas las células de los tejidos de un individuo. Su descubrimiento ha permitido a la medicina un avance en las posibilidades de éxito de un trasplante.

Los antígenos se identifican por un número y pueden ser enormemente variados. Se conocen más de 300 para el lugar A, alrededor de 500 para B, más de 150 para C, 400 para DR y más de 50 para DQ.

Como la investigación es permanente, esos números aumentan en forma constante. Si observamos con atención a esta gran cantidad de variedades, nos damos cuenta del alto número de combinaciones que son posibles; y, por lo tanto lo difícil que resulta que ellas sean coincidentes.

Los genes del Sistema HLA se transmiten siempre en bloque. Cada bloque se denomina haplotipo. El padre aporta un haplotipo (=mitad del genotipo) y la madre otro, dando origen al genotipo HLA, perfil genético propio del nuevo ser. Es este perfil - o "huella genética" - el que debe coincidir en los "lugares estratégicos" para que dos tejidos se acepten.

El rol de la disparidad HLA donante/receptor en la gravedad de la EICH ha sido estudiado con profundidad en los últimos años. Las exigencias de histocompatibilidad en el trasplante de médula ósea son máximas. El donante ideal es un hermano HLA idéntico

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El sistema HLA presenta una considerable heterogeneidad, con un enorme polimorfismo y una amplia distribución de haplotipos. La posibilidad de encontrar donantes compatibles para los pacientes es baja en los pacientes que tienen hermanos y más baja aun la posibilidad en los pacientes que no tienen hermanos, sin embargo la posibilidad de encontrar un donador idéntico es más alta, por ello la importancia de analizar los trasplantes con HLA idéntico y HLA compatible en este estudio.

## **OBJETIVO GENERAL**

Utilizar un esquema de acondicionamiento no mieloablativo en pacientes quienes requieren de un trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1- Identificar la supervivencia de los pacientes trasplantados con disparidad de HLA.
- 2- Comparar la supervivencia de los pacientes con trasplante de CTH que presentan disparidad de HLA.
3. Describir la presencia o ausencia de enfermedad injerto contra huésped en pacientes con disparidad de HLA.

## PACIENTES Y MÉTODOS

### a) Pacientes y donadores:

Se incluyeron en este estudio todos los pacientes sometidos a trasplante alogénico del Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla (Puebla MEXICO) a partir de enero de 1999. Se hizo la tipificación serológica de los antígenos clase I (HLA A y B) hasta 2002; después de esta fecha se empleó biología molecular. Los antígenos HLA clase II (DR) fueron estudiados siempre por biología molecular. Los donadores y los receptores requerían tener los sitios HLA A, B y DR iguales para ser considerados HLA idénticos. En todos los casos el donador fue un hermano, fuera HLA-compatible, con un solo antígeno desigual (5/6) o HLA idéntico (6/6). La tabla I muestra algunas de las características de los pacientes y sus donadores. Todos los pacientes tenían una puntuación Karnofsky de 100% cuando se realizó el procedimiento.

Se obtuvo la aprobación del Comité de Ética de la Institución así como el consentimiento informado de todos los pacientes.

b) Movilización de las CTH y aféresis:

Se administró al donador durante los días -5 a +2 filgrastim (G-CSF) a razón de 10 mg/kg/día. Los procedimientos de aféresis se realizaron en los días 0, +1 y +2 con una máquina Haemonetics V-50 plus (Haemonetics Corporation, Braintree MA) ó una máquina Baxter C-3000 Plus (Baxter Healthcare, Deerfield IL) empleando el protocolo de aféresis de Spin-Nebraska<sup>40</sup>. El objetivo fue procesar de 5000-7000 ml de sangre/ m<sup>2</sup> en cada una de las aferesis, a fin de obtener un mínimo de  $5 \times 10^8$  células mononucleares y/ó  $2-6 \times 10^6$  células CD34 viables/kg del receptor. La cuantificación del total de glóbulos blancos, células mononucleares (MNC) y células con antígeno CD34 se hizo por citometría de flujo <sup>41,42</sup>, en un aparato EPICS Elite ESP (Couiter Electronics, Hialeah,FL) usando el anticuerpo monoclonal anti-CD34 HPCA-2 (Becton Dickinson, San Jose CA).

c) Acondicionamiento y trasplante:

Se empleó el método "Mexicano" de acondicionamiento no mieloablativo <sup>43,44,45</sup>; el método es una modificación de los esquemas de acondicionamiento de baja intensidad usados en Houston por Giralt *et al* <sup>46</sup>, y en Jerusalén por Slavin *et al* <sup>47</sup>: Se usa busulfán oral 4 mg/kg en los días -6 y -5; ciclofosfamida i.v. 350 mg/ m<sup>2</sup> en los días -4, -3 y -2; fludarabina i.v. 30 mg/

m<sup>2</sup> en los días -4, -3 y -2; ciclosporina A oral (CyA) 5mg/kg iniciando el día -1 y metotrexato i.v. 5mg/m<sup>2</sup> administrado los días +1, +3, +5 y +11. La CyA oral se continuó hasta el día 180, con ajustes de acuerdo a los niveles en sangre, y luego se disminuyó de manera paulatina por 30-60 días más. En caso de aparición de datos de EICH, la disminución CyA se hizo por periodos más largos. Se administró en todos los pacientes ondansetron (1 mg cada 12 hrs durante 2 días después de la quimioterapia IV.), ciprofloxacina (250 mg dos veces al día) e itraconazol (100 mg dos veces al día); los antibióticos y antimicóticos se emplearon hasta que los pacientes recuperaron más de 500 granulocitos /ul . Los productos de aféresis se inyectaron a los pacientes los días 0, 1 y 2, de acuerdo con la cantidad de células CD34 viables obtenidas para trasplantar un total de  $2-6 \times 10^6$  células CD34 viables/kg del receptor.

d) Estudios de biología molecular:

Para seguir la cinética del quimerismo post-trasplante, se investigaron los cromosomas X y Y <sup>47,48</sup>, en casos de disparidad de sexo, por medio de hibridización in situ fluorescente (FISH); en los otros casos, los estudios de quimerismo se hicieron investigando microsatélites / polimorfismos de fragmentos de restricción (RFLP) <sup>48,49</sup>. Los marcadores moleculares de las enfermedades subyacentes (BCR/ABL, PML/RARa y AML1/ETO) se investigaron por reacción en cadena de la polimerasa / transcriptasa reversa (RT-PCR) <sup>50</sup>. Estos estudios, se hicieron 15, 30 y 60 días después del trasplante y cada 2- 6 meses después del día 60 <sup>48</sup>.

## RESULTADOS:

Se llevaron a cabo de manera prospectiva 58 trasplantes alogénicos que se incluyen en el estudio. La tabla 1 muestra los datos sobresalientes de estos pacientes agrupados en 2 sub-grupos: HLA idénticos (6/6) y HLA compatibles (5/6):

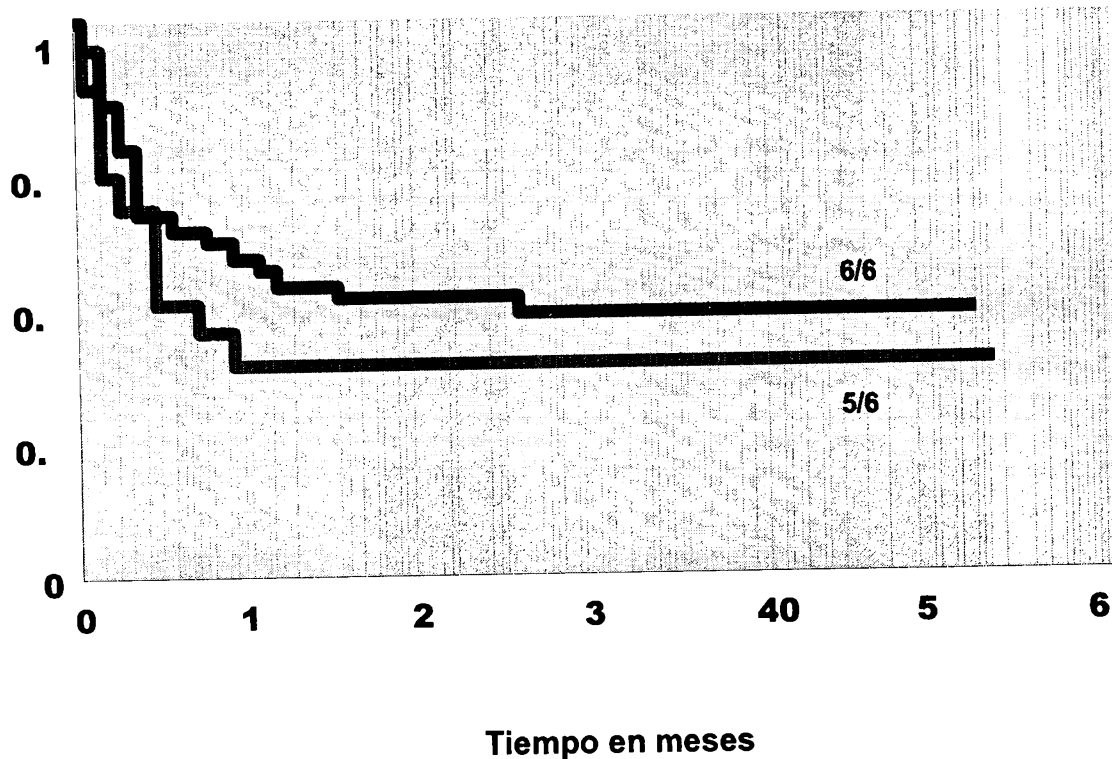
- a) HLA idénticos 6/6: Se hicieron 40 trasplantes en 36 pacientes, los diagnósticos y características sobresalientes se incluyen en la tabla 1. La mediana de supervivencia (SV) de este grupo fue de 33 meses con SV de 52 meses del 47%. La prevalencia de enfermedad Injerto Contra huésped aguda fue de 57%, en tanto que la de enfermedad Injerto contra huésped crónica fue del 25% . La proporción de recaídas en este grupo fue de 45%, la mayoría de los pacientes que recayeron tenían leucemia aguda linfoblástica (LAL = 11 casos). Todos los pacientes se injertaron de manera exitosa.
- b) HLA compatibles (5/6): Se realizaron 18 trasplantes en 16 pacientes (ver tabla 2). La mediana de SV de este grupo fue de 8 meses, con SV de 53 meses de 38%. La prevalencia de EICH aguda fue de 38% y de EICH crónica de 11%. La proporción de recaídas de este grupo fue de 55%; la mayoría de los pacientes quienes recayeron tenían también LAL (4 casos). Dos pacientes de este grupo rechazaron el trasplante. La figura 1 muestra las curvas de supervivencia global para estos dos grupos de pacientes.

PACIENTES CON TRASPLANTE ALOGENICO Y SU HLA



Figura 1. Nos muestra el porcentaje de pacientes con HLA idéntico y HLA compatible.

### Supervivencia global



c)

Figura 2. Supervivencia global de los pacientes trsplantados de un hermano HLA idéntico (6/6) o compatible (5/6) usando el esquema "Mexicano" de acondicionamiento no Mieloablativo. Las diferencias no son significativas usando el método log-rank chi-cuadrada.

N	Diagnóstico	Edad	Sexo	Status	Injerto	aEICH	cEICH	Recaidas
1	AA	27	M	D-68	+	No	-	No
2	ALL	24	M	A-192	+	II	No	Si
2*	ALL	24	M	D-77	+	II	-	Si
3	CML,CP	48	M	D-369	+	I	No	Si
4	AML	32	F	D-291	+	No	No	Si
5	ALL	41	M	D-123	+	I	No	Si
6	Ph1 ALL	39	F	D-307	+	No	Limitado	Si
7	ALL	10	M	D-112	+	No	No	Si
8	ALL	4	M	A-390	+	No	Limitado	Si
8*	ALL	5	M	D-54	+	No	-	Si
9	CML,CP	39	M	A-1566	+	I	No	No
10	CML,CP	43	M	D-990	+	I	Ext	No
11	2 <sup>nd</sup> AML	40	M	A-1353	+	I	Limitado	No
12	CML,CP	40	M	D-248	+	II	Ext	No
13	CML,CP	47	M	A-1131	+	I	Limitado	No
14	HD	24	F	A-940	+	I	Limitado	No
15	AML-M2	49	F	A-207	+	No	No	Si
15*	AML-M2	49	F	A-884	+	I	Limitado	No
16	HD	20	M	D-558	+	No	No	No
17	CML,CP	28	F	A-883	+	II	No	No
18	ALL	20	M	A-111	+	No	No	Si
18*	ALL	20	M	D-48	+	IV	-	No
19	Low grade lymphoma	46	M	D-130	+	II	Limitado	Si
20	ALL	13	F	D-134	+	No	No	Si
21	Hybrid AL	9	M	A-18	+	No	-	Si
22	ALL	9	M	D-102	+	No	No	Si

23	ALL	4	M	D-109	+	I	No	Si
24	Myelodysplasia	34	F	D-104	+	No	No	No
25	PLL	49	M	D-44	+	IV	-	No
26	AML	34	F	D-86	+	No	-	Si
27	CML,CP	33	F	A-498	+	I	Limitado	No
28	CML,CP	35	F	A-355	+	I	No	No
29	Myelodysplasia	63	M	D-43	+	I	-	No
30	AML-M1	55	M	A-330	+	I	No	No
31	ALL	36	F	A-330	+	I	No	Si
32	CML,CP	10	F	D-201	+	III	No	No
33	AA	52	F	A-46	+	No	-	No
34	AML	49	M	A-60	+	I	-	No
35	ALL	20	M	A-30	+	No	-	No
36	ALL	6	F	A-97	+	No	-	No

Tabla 1. Las características sobresalientes de los pacientes con injerto de un hermano HLA idéntico. N= número de pacientes según aloinjerto, la edad es expresada en años, aEICH=Enfermedad injerto contra huésped agudo, cEICH= Enfermedad injerto contra huésped crónica. Tiempo estado actual se expresa en días después del injerto, A= vivo; D=muerto, AA= anemia aplásica, CML= leucemia mielocíticacrónica, CP= fase crónica; BP= fase blásticca ; Ph1=cromosoma Filadelfia ; AML= leucemia mieloblástica aguda; ALL= leucemia linfoblástica aguda, HD=enfermedad de Hodgkin; PLL= leucemia prolinfocítica; AL= leucemia aguda; EXT-extensa.

N	Diagnóstico	Edad	Sexo	Status	Injerto	aEICH	cEICH	Recidas	HLA
									R/D
1	CML BP	45	M	A-84	+	No	-	Si	A34/A2
1*	CML BP	45	M	D-79	+	No	-	Si	A34/A2
2	CML CP	54	M	D-242	+	No	No	Si	B39/B51
3	AML-M2	46	M	A1610	+	No	No	No	B39/B41
4	AML-M2	14	M	D-330	+	No	No	Si	DR4/DR7
5	CML CP	29	M	D-63	+	IV	-	No	A2/A30
6	ALL	10	M	A-150	+	No	No	Si	DR7/DR3
6*	ALL	10	M	D-190	Rechazo	No	No	Si	DR7/DR3
7	HD	29	M	D-40	+	I	-	No	DR4/DR13
8	AML-M2	27	M	D-171	+	No	No	Si	DR4/DR13
9	CML CP	37	F	D-51	+	II	-	No	A2/A68
10	CML CP	41	F	D-50	+	IV	-	No	B44/B51
11	CML CP	28	F	A-300	+	No	No	No	B35/B39
12	AML-M2	35	F	D-188	+	I	Limitado	Si	A11/A2
13	ALL	14	M	D-11	+	IV	-	Si	DR8/DR14
14	ALL	3	M	A-575	Rechazo	No	No	Si	DR8/DR13
15	CML CP	18	M	A-381	+	I	Limitado	No	DR14/DR15
16	ALL	5	F	A-62	+	No	No	No	A24/A32

Table 2. Características sobresalientes de los pacientes injertados a partir de la disparidad en un sitio único, de hermano HLA compatible (5/6) N= número de paciente, segundo aloinjerto, la edad es expresada en años; aEICH= enfermedad injerto contra huésped aguda; cEICH= enfermedad injerto contra huésped crónica; El tiempo estado actual es expresado en días después del aloinjerto; A= vivo; D= muerto; CML leucemia mielocítica crónica; CP= fase crónica; BP= fase blástica; AML= leucemia mielocítica aguda; ALL= leucemia linfoblástica aguda; HD enfermedad de Hodgkin; HLA R/D= disparidad antígenos HLA entre receptor y donador; EXT= extenso.

## DISCUSIÓN:

El trasplante alogénico de CPH a partir de donadores HLA compatibles es una alternativa para los pacientes quienes no tienen un donador hermano HLA idéntico. Nosotros llevamos a cabo trasplantes de CTH de donadores idénticos (6/6) o compatibles (5/6) usando el mismo régimen de acondicionamiento no mieloablativo y la misma profilaxis para EICH. Anasetti *et al*<sup>51</sup> no encontraron diferencias en la SV global entre 119 receptores de trasplantes de donadores HLA compatibles y 967 receptores de trasplantes de donadores HLA idénticos; en este grupo, la mortalidad aumentada de EICH y el rechazo del injerto pareció ser compensado por una proporción de recaídas mas baja en los pacientes 5/6. La mayoría de pacientes reportados por Anasetti *et al*, recibieron metotrexato (MTX) y prednisona para profilaxis de EICH y todos recibieron esquemas de acondicionamiento con radioterapia corporal total<sup>51</sup>.

Por otra parte, Ottinger *et al*.<sup>52</sup> encontraron equivalentes de SV general en los 37 receptores de trasplante de antígeno HLA compatible, cuando se realizó un análisis de igualdad.

Es interesante describir que no se encontró diferencia de EICH entre los dos grupos aunque la incidencia general de EICH fue baja. Todos los pacientes en este estudio recibieron un curso breve de MTX y CyA para profilaxis de EICH y todos los pacientes excepto uno, recibieron radioterapia<sup>52</sup>.

Por otro lado, varios estudios más pequeños, han demostrado un resultado adverso con trasplantes de antígeno único desigual<sup>53,54</sup>. Sin embargo, estos estudios que tenían grupos de pacientes con HLA único desigual, fueron demasiado pequeños para ser apropiados para análisis de subgrupo.

En un estudio reciente, Hasegawa et al<sup>55</sup>, encontraron que el SV general de pacientes con trasplante HLA de hermano compatible, fue inferior a los pacientes con trasplante HLA de hermanos idénticos: la población de pacientes en este grupo fue de mayor edad e incluyó más enfermedad de riesgo intermedio, comparado con pacientes de estudios previos.

Además todos los pacientes en este estudio recibieron profilaxis para EICH con CyA y MTX y 57% de los pacientes recibieron regímenes de radioterapia, ambos estudios previos usaron exclusivamente regímenes de radioterapia localizada.

No obstante hasta hoy no hay series de pacientes analizados de acuerdo con la compatibilidad HLA, aloinjertados usando CTH no mieloablatoivo y la misma profilaxis de EICH con CyA y MTX.

Nuestros datos muestran que la SV general a largo plazo de aquellos pacientes con igualdad perfecta (6/6) fue mejor que el de los pacientes con una sola dosparidad de sitio HLA (5/6): Cuando se comparan los aloinjertos hechos de HLA idéntico (n=40) o compatible, con uno dosparidad (n=18), respectivamente, el SV general media fue de 33 meses VS. 8 meses ( $p < .01$ ), la SV de 52 meses fue 47% VS 38% ( $p > 0.2$ ),

la prevalencia de EICH agudo fue de 57 % VS 38 %, comparado con el de EICH crónico 25% VS 11% y el porcentaje de recaídas fue de 45% VS 55%.

Los dos pacientes que tuvieron rechazo al injerto tenían una igualdad de 5/6. Probablemente debido al reducido número de pacientes, no se encontraron diferencias en la distribución de disparidad del locus entre pacientes que desarrollaron EICH y los que no.

A pesar de la tendencia a obtener malos resultados en pacientes de hermanos HLA compatibles, sometidos a aloinjertos, la mayoría de las diferencias en el resultado no fueron importantes. Parece que CTH no mieloablatoivo puede ofrecerse a individuos con HLA idéntico o un donador hermano compatible.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Santos GW. History of bone marrow transplantation. *Clin Haem* 1983;12:611-39.
2. IBMTR/ABMTR Newsletter, February 2002, volume 9, issue 1.
3. Thomas ED. Hematopoietic stem cell transplantation. *Sci Am* 1995; 272:38-47.
4. Slavin 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
5. Forkner CE. *Leukemia and allied disorders*. New York: Macmillan; 1938.
6. Osgood EE, Riddle MC, Mathews TJ. Aplastic anemia treated with daily transfusions and intravenous marrow; case report. *Ann Intern Med* 1939;13:357-67.
7. Forkner CE. *Leukemia and allied disorders*. New York: Macmillan; 1938.
8. Osgood EE, Riddle MC, Mathews TJ. Aplastic anemia treated with daily transfusions and intravenous marrow; case report. *Ann Intern Med* 1939;13:357-67.
9. Jacobson LO, Marks EK. Role of the spleen in radiation injury. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;70:7440.
10. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, Sheldon E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst* 1951;12:197-201.
11. Lorenz E, Congdon CC. Modification of lethal irradiation injury in mice by injection of homologous and heterologous bone marrow. *J Natl Cancer Inst* 1954;14:955-61.
12. Barnes DWH, Loutit JF. What is the recovery factor in spleen? *Nucleonics* 1954;12: 68-71.
13. Miescher PP, Fauconnet M. Mise en évidence de différents groupes leucocytaires chez l'homme. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift* 1954;84:597-9.
14. Dausset J. Iso-leuco-anticorps. *Acta Haematologica* 1958;20:156-66.
15. Dausset J, Rapaport FT, Legrand L, Colombani J, Barge A, Feingold N. Studies on transplantation antigens (HL-A) by means of skin grafts from 90 children onto their fathers. *Nouv Rev Française d'Hématol* 1969;9:215-9.

16. Thomas ED. The evolution of scientific foundation of marrow transplantation based on human studies. En: Forman SJ Blume KG, Thomas ED. Bone marrow transplantation. Boston: Blackwell Scientific Publication; 1994. p.12-5.
17. Thomas ED, Storb R, Clift RA. Bone-marrow transplantation. *N Engl J Med* 1975;292:832-43, 895.
18. Santos GW Owens AH Jr. Allogeneic marrow transplants in cyclophosphamide treated mice. *Transplantation Proceedings* 1969;1: 44-6.
19. Thomas ED , Lochte HL, Jr. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy . *N Eng J Med* 1957;257:491.
20. Bach FH, Albertini RJ. Bone marrow transplantation in a patient with Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet* 1968; 2:1364.
21. Koning J, van Bekkum DW. Transplantation of bone marrow cells and fetal thymus in an infant with lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 1969;1:1223.
22. Thomas ED, Storb R, Clift RA, et al. Bone-marrow transplantation. *N Engl J Med* 1975; 292:832-43, 895.
23. Kurnick N B, Montano A, Gerdes JC, Feder BH. Preliminary observations on the treatment of postirradiation hematopoietic depression in man by the infusion of stored autogenous bone marrow. *Ann Internal Med* 1958;49:973-86.
24. McGovern JJ Jr, Russel PS, Atkins L, Webster EW. Treatment of terminal leukemic relapse by total-body irradiation and intravenous infusion of stored autologous bone marrow obtained during remission. *N Eng J Med* 1959;260:675-83.
25. Appelbaum FR, Herzig GP, Ziegler JL, Graw RG, Levine AS, Deisseroth AB. Successful engraftment of cryopreserved autologous bone marrow in patients with malignant lymphoma. *Blood* 1978;52:85-95.
26. Goodman JW, Hodgson GS. Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood* 1962;19:702-14.
27. Körbling M, Burke P, Braine H, Effenbein G, Santos G, Kaizer H. Successful engraftment of blood-derived normal hemopoietic stem cells in chronic myelogenous leukemia. *Exp Hematol* 1981;9:684-690
28. Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A, Locatelli F, Arcese W, Pasquini R, Ortega J, Souillet G, Ferreira E, Laporte JP, Fernandez M, Chastang C. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N Eng J Med* 1997;337,373-81.
29. Speck B, Zwaan FE, van Rood JJ, Eernisse JG. Allogeneic bone marrow transplantation in a patient with aplastic anemia using a phenotypically HLA-A-

identical unrelated donor. *Transplantation* 1973;16: 24-8.

30. Carella AM, Champlin R, Slavin S, McSweeney P, Storb R. Mini-allografts: ongoing trials in humans. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25:345-50.

31. Champlin R, Khouri I, Kornblau S, Molldrem J, Giralt S. Reinventing bone marrow transplantation: reducing toxicity using nonmyeloablative preparative regimens and induction of graft-versus-malignancy. *Curr Opin Oncol* 1999:87-95.

32. Giralt S, Estey E, Albitar M, et al. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. *Blood* 1997; 89:12-20, .

33. Thomas ED. Hematopoietic stem cell transplantation. *Sci Am* 1995; 272:38-47.

34. Slavin 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

35. 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

36. Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D, López-Martínez B.: Editorial: Porqué se están haciendo los minitránsplantes de médula ósea?. *Rev Invest Clín Méx* 2001, 53:110-111.

37. Ruiz-Argüelles GJ.: "The Mexican approach" to conduct non-myeloablative stem cell transplantation. *Eur J Haematol* 2001; 67:335.

38. Ruiz-Argüelles GJ.: Allogeneic stem cell transplantation using non-myeloablative conditioning regimens: Results of the Mexican approach. *Int J Hematol* 2002; 76 (Suppl 1): 376-379.

39. Ruiz-Argüelles GJ.: *Rev, Biomed* 2005;16(3):207=213

40. 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

Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D, Ruiz-Argüelles A, González-Llano O, Cantú OG, Jaime-Pérez JC.: Results of an outpatient-based stem cell allotransplant program using non-myeloablative conditioning regimens. *Am J Hematol* 2001; 66:241-244.

41. Ruiz-Argüelles A.: Flow cytometry in the clinical laboratory. Principles, applications and problems. *Ann Biol Clin* 1992; 50:735-743

42. Ruiz-Argüelles A, Orfao A.: Caracterización y evaluación de células totipotenciales en sangre periférica y médula ósea. In Ruiz-Argüelles GJ, San-Miguel J.F (editors): *Actualización en Leucemias*. Editorial Médica Panamericana. México City 1996. pp 79-82
- 43 Gómez-Almaguer D.: The simplification of the SCT procedures in developing countries has resulted in cost-lowering and availability to more patients. *Int J Hematol* 2002;76 (Suppl 1):380-2.
- 44 Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Gómez-Rangel D, Estrada E, Marín-López A, Bravo-Hernández G, Hernández JM.: Decreased transfusion requirements in patients given stem cell allografts using a non-myeloablative conditioning regimen: A single institution experience. *Hematology* 2003, 8: 151-154
45. 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
46. Slavin 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
47. Pinkel D, Straume T, Gray JW.: Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 2934-2938
48. Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Santellán-Olea MR, Abreu-Díaz G, Reyes-Núñez V, Ruiz-Argüelles A, Garcés-Eisele J.: Follow up of hemopoietic chimerism in individuals given allogeneic hemopoietic stem cell allografts using an immunosuppressive, non-myeloablative conditioning regimen: A prospective study in a single institution. *Leukemia Lymph* 2002, 43:1509-1511.
49. Yam P, Petz L, Knowlton R, Wallace R, Stock A, deLange G, Brown V, Doris-Keller H, Blume KG.: Use of DNA restriction fragment length polymorphisms to document marrow engraftment and mixed hematopoietic chimerism following bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987;43:399-407
50. Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Reyes-Núñez V, Pérez-Romano B, Ruiz-Argüelles A, Ramírez-Cisneros F, López-Martínez B, López-Tapia JD, Rivadeneyra-Espinoza L.: Assessment of residual disease in acute leukemia by means of polymerase chain reaction: A prospective study in a single institution. *Rev Invest Clin Mex* 2000, 52:118-124
51. Anasetti C, Beatty PG, Stirb R, Martin PJ, Mori M, Sanders JE, Thomas ED, Hansen JA.,; Effect of HLA incompatibility on graft versus host disease, relapse and survival after marrow transplantation in patients with leukemia and lymphoma. *Human Immunol* 1990; 29:79-91

52. Ottinger H, Beelen D, Sayer H, Schaefer UW, Gross-Wilde H.: Bone marrow transplantation from partially HLA matched related donors in adults with leukemia: The experience at the University Hospital of Essen, Germany. *Brit J Haematol* 1996; 92:913-921.
53. Bacigalupo A, Hows J, Gordon-Smith EC, Gluckmann E, Van Lint MT, Congiu M, James DC, Barret AJ, Gmur J, de Planque MM.: Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia from donors other than HLA identical siblings: A report from the BMT Working Party. *Bone Marrow Transpl* 1988; 3: 531-535.
54. Powles RL, Morgenterns GR, Kay HE, Mc Elwain TJ, Clink HM, Dady PJ, Barret A, Jameson B, Depledge MH, Watson JG, Sloane J, Leigh M, Lumley H, Hedley D, Lawler SD, Filshie J, Robinson B.: Mismatched family donors for bone marrow transplantation as treatment for acute leukemia. *Lancet* 1983; 1:612-625.
55. Hasegawa W, Lipton JH, Messner HA, Jamal H, Yi QL, Daly AS, Kotchetkova N, Kiss TL.: Influence of one human leukocyte antigen mismatch on outcome of allogeneic bone marrow transplantation from related donors. *Hematology* 2003; 8:27-33.