

1. ANTECEDENTES

1.1. Antecedentes generales

1.1.1. Trasplante de células hematopoyéticas totipotenciales

El trasplante de médula ósea, correctamente llamado trasplante de células hematopoyéticas totipotenciales (TCH) consiste en la infusión intravenosa de células hematopoyéticas progenitoras con la finalidad de restablecer la función hematopoyética en pacientes con una médula ósea defectuosa o lesionada.¹

Originado como consecuencia de la disfunción de la médula ósea tras la exposición a dosis altas de radiación, el TCH tiene en la actualidad múltiples aplicaciones dentro de las que destacan padecimientos oncológicos, enfermedades autoinmunitarias y alteraciones hematológicas.^{2,3} En 1959, tras el descubrimiento del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), E. Donnall Thomas y colaboradores, lograron los primeros TCH alogénicos exitosos en dos pacientes con leucemia aguda, que tras la administración de radiación de 850r y 1140r respectivamente, recibieron injertos de gemelas idénticas.³

Los TCH se pueden dividir en dos tipos, los autólogos y los alogénicos. El trasplante de células hematopoyéticas autólogas (auto-TCH) tiene como principal objetivo preservar la función hematopoyética de la médula ósea tras la administración de dosis altas de quimioterapia y/o radioterapia. Por su lado el trasplante de células hematopoyéticas alogénicas (alo-TCH) tiene tres objetivos fundamentales: 1) sustituir el tejido hematopoyético defectuoso, insuficiente o neoplásico; 2) permitir la administración de quimioterapia y/o radioterapia a dosis altas; e 3) inducir el efecto de injerto contra tumor (EICT).⁴

Las células hematopoyéticas totipotenciales (CH) se distinguen por su capacidad de auto-renovación, la que resulta en progenies con las mismas características, y por dar origen a todos los elementos formes sanguíneos.⁵ Dicha capacidad permite que el trasplante de un pequeño volumen de CH sustituya de manera completa y sostenida la función hematopoyética en el receptor.⁶ Se caracterizan por expresar el antígeno CD34(+), sin expresar otros antígenos de diferenciación de línea (lin-).⁴

Existen tres fuentes principales para la obtención de CH, la médula ósea, la sangre periférica y el cordón umbilical. La médula ósea fue la primera fuente de CH para su trasplante, se obtiene a través de aspiraciones repetidas en las crestas ilíacas posteriores bajo anestesia general o local.^{1,2} Debido a la circulación de las CH, desde la médula ósea hacia la sangre periférica, ésta última se consideró una fuente alternativa para la obtención de CH. Se obtiene una mayor cantidad de CH con su movilización de la médula ósea hacia la sangre periférica tras la administración de factores de crecimiento hemolinfopoyético como el G-CSF. Por último el cordón umbilical es una fuente escasa de CH, sin embargo efectiva, ya que requiere una menor cantidad de CH por su alto índice proliferativo y presenta una menor probabilidad de rechazo por su inmadurez inmunológica.² La cantidad de células requeridas para la sustitución de la función hematopoyética a largo plazo no se ha establecido con certeza.¹

Los TCH como terapia alternativa para trastornos hematopoyéticos, autoinmunes y oncológicos resultan en mayores índices de curación y remisión, sin embargo también presentan tasas mayores de morbilidad y mortalidad.²

1.1.1.1. Panorama del Trasplante de Células Hematopoyéticas Totipotenciales en México

En 1980 se efectuó el primer trasplante de células hematopoyéticas totipotenciales en México por el Dr. Ricardo Sosa y sus colaboradores en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Dr. Salvador Zubirán" (INCMNSZ). Después de este trasplante se hicieron algunos otros aislados en el Centro Médico Nacional, en el hospital Universitario de Monterrey, y en el INCMNSZ con resultados desalentadores, dando como resultado la suspensión de esta modalidad terapéutica de manera transitoria en varias instituciones médicas del país.⁷

La segunda etapa de la historia de los TCH se inició a partir de 1995, siendo algunas de las causas de esta reactivación: a) el empleo de CH de sangre periférica, b) la simplificación de los métodos para llevar a cabo los trasplantes y c) el uso de esquemas de acondicionamiento no mieloablativo.^{7,9}

La institución de salud mexicana que más TCH ha realizado es el Centro Médico La Raza del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), donde se han realizado 385 alo-TCH y 304 auto-TCH. Otras instituciones que destacan por sus altos índices de TCH incluyen el Instituto Nacional de Cancerología, el IMSS Puebla, el Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla (CHMI), el INCMNSZ, el hospital Universitario de Nuevo León y el Centro Médico ABC entre otros.^{7,8}

Los avances en la preservación de las CH, los esquemas de acondicionamiento de intensidad reducida y el empleo de sangre periférica han permitido la conducción extrahospitalaria y la reducción de costos, haciendo que este recurso terapéutico sea accesible a mayor número de pacientes mexicanos.^{7,9}

1.1.2. Efecto de injerto contra tumor

Los primeros alo-TCH se realizaron en pacientes con leucemia. En ellos se observó que las células del injerto generaban un ambiente hostil para la supervivencia de las células leucémicas, conocido en la actualidad como efecto de injerto contra tumor (EICT).³ Posteriormente este efecto se confirmó al observar un mayor riesgo de recaída en los pacientes que recibieron injertos purgados de linfocitos T, o singénicos.¹⁰

Este efecto es resultado del reconocimiento de células malignas resistentes a los esquemas de acondicionamiento, por parte de los linfocitos T inmunocompetentes del donador a través de moléculas del CMH I. En los alo-TCH HLA-idénticos, los antígenos de histocompatibilidad menor (MiHAg) en células leucémicas pueden inducir el EICT.² El EICT se encuentra estrechamente relacionado con la enfermedad de injerto contra huésped (EICH). En estudios recientes se ha observado una mayor probabilidad de alcanzar la remisión completa en los pacientes que desarrollaron EICH crónica extensa probablemente asociado al EICT.¹⁰

Tras la identificación del EICT, se comenzaron a utilizar esquemas de acondicionamiento de intensidad reducida, con la finalidad de permitir la erradicación de células madre malignas por parte del sistema inmune del donador.

1.1.3. Enfermedad de injerto contra huésped

En los primeros alo-TCH se identificó una reacción inmune entre los linfocitos T del donador y los tejidos del receptor denominada enfermedad de injerto contra huésped (EICH). Fue hasta finales de la década de 1950, que tras la identificación del CMH, se comenzó a hacer una mejor selección del donador, con la finalidad de aminorar esta respuesta.²

La EICH puede ser considerada una respuesta exagerada y mal regulada del sistema inmune competente (donador) a un tejido dañado (huésped) por el proceso del trasplante.¹¹ Los linfocitos T del donador pueden reconocer antígenos tisulares del receptor causando una reacción inmune cuya gravedad depende del grado de incompatibilidad determinado por el CMH. Aunque el principal factor de riesgo es la incompatibilidad de HLA, la EICH se puede desarrollar a pesar de un HLA-idéntico, por presencia de MiHA_g.² Los MiHA_g son péptidos derivados de proteínas intracelulares presentados a los linfocitos T del donador a través de moléculas del CMH.^{12,13}

Con relación al origen de las CH, las provenientes del cordón umbilical presentan menor prevalencia de EICH, debido a que su inmunogeneicidad nativa permite mayores grados de incompatibilidad. Por el contrario de acuerdo con un meta-análisis, el uso de sangre periférica presenta un riesgo relativo de 1.16 para EICH aguda y de 1.53 para enfermedad crónica, probablemente relacionado al mayor número de linfocitos T CD3+ en dichas recolecciones.¹⁴

La EICH es la complicación más importante de los alo-TCH, colocándola como la primera causa de mortalidad no relacionada a la recaída.^{2,15} Se presenta en un 30-70% de los pacientes que se someten a alo-TCH con supervivencia mayor a 100 días. Se ha reportado una mayor incidencia en los TCH que utilizan sangre periférica y altas dosis de células CD34+. Por el contrario, su prevalencia disminuye utilizando esquemas de acondicionamiento no mieloablativo.^{12,15}

La EICH se puede dividir en dos entidades clínicas, la enfermedad aguda que ocurre dentro de los primeros 100 días posteriores al trasplante, y la enfermedad crónica que ocurre posterior a los 100 días del trasplante.^{1,12} Estos dos síndromes son resultado de diferentes mecanismos patogénicos.¹⁶

La EICH aguda ocurre en aproximadamente 60% de los alo-TCH entre hermanos HLA-idénticos y en 80% con donadores no emparentados, con una tasa de mortalidad de hasta 20%.¹⁷ Los principales tejidos afectados son la piel, el hígado y el tracto gastrointestinal.¹²

Inicia con el daño endotelial y epitelial ocasionado por la enfermedad subyacente y exacerbado por los esquemas de acondicionamiento.^{12,13,18} Esta lesión tisular, favorece la liberación de una tormenta de citocinas proinflamatorias, moléculas de adhesión y antígenos del CMH, promoviendo la activación y maduración de las células presentadoras de antígenos (CPAs).^{13,18} El daño a la mucosa gastrointestinal amplifica dicha respuesta permitiendo la translocación de productos bacterianos (LPS) hacia la circulación sistémica.¹¹ A continuación los linfocitos T del donador proliferan y se diferencian tras el reconocimiento de los ligandos expresados en la superficie de las CPAs e interacción con las moléculas coestimuladoras. Los linfocitos T activados migran hacia los órganos diana, en donde se reclutan otros efectores leucocitarios.^{13,18} Los mediadores inflamatorios solubles actúan en conjunto con los linfocitos T citotóxicos (LTCs) y natural killers (NK), quienes median la citotoxicidad a través de vías Fas/FasL y perforina/granzima, y la producción de citocinas como TNF- α , creando el espectro completo de la EICH.^{11,12,13}

La manifestación mas temprana es una dermatosis maculopapular pruriginosa generalmente localizada a palmas y plantas, que se puede diseminar a cualquier parte del cuerpo. La afección gastrointestinal se caracteriza por náusea, vómito, dolor abdominal, diarrea, y sangrado de tubo digestivo. Por último la afección hepática se manifiesta clínicamente con ictericia y se puede observar una alteración importante en las pruebas de función hepática.² Una complicación importante aunque poco frecuente asociada con la enfermedad aguda son las neumonías no infecciosas.¹²

En 1974 se originó un sistema de clasificación de gravedad para la EICH aguda, "The Glucksberg grading system" (Anexo 1). Posteriormente en 1997 el IBMTR, publicó un segundo sistema de clasificación, realizando una mejor correlación entre el estadio clínico y el riesgo de muerte relacionada al trasplante, el "IBMTR severity index for grading acute graft-versus-host disease (Anexo 2).¹⁷

El riesgo de EICH aguda incrementa con el uso de donadores no emparentados, incompatibilidad HLA, edad mayor del donador, donador femenino con multiparidad, edad avanzada del receptor, tipo de injerto (sangre periférica), y esquema de acondicionamiento.¹² Actualmente para su manejo se utiliza una combinación de ciclosporina o tacrolimus con un curso corto de metotrexate. El micofenolato de mofetilo (MMF) se ha utilizado en los trasplantes con esquemas de acondicionamiento de intensidad reducida, por su efecto profiláctico y porque promueve la toma de injerto. Así mismo se ha reportado el uso de inmunoglobulina antitimocito (ATC) y alemtuzumab para la depleción *ex vivo* e *in vivo* de linfocitos T.

La EICH crónica se asocia con pérdida de la auto-tolerancia y es la complicación a largo plazo más común y grave de los alo-TCH, ocurriendo en un 60% a 80% de los pacientes con supervivencia mayor a 100 días, con una tasa de mortalidad que varía de 20-40%.^{16,19,20} El tiempo medio de presentación es 4 a 6 meses posteriores al TCH, sin embargo en un 5% a 10% se presenta posterior a un año.¹⁹ El riesgo aumenta con la edad del donador y receptor así como con el uso de sangre periférica e injertos de donadores no emparentados.^{16,19}

Mientras que en la enfermedad aguda predomina un patrón de citocinas Th1, la enfermedad crónica se caracteriza por altas concentraciones de citocinas Th2, desregulación de linfocitos B y auto-anticuerpos contra múltiples antígenos de superficie e intracelulares.¹⁶ Por lo que la enfermedad crónica se considera un síndrome de desregulación inmunológica resultando en inmunodeficiencia y autoinmunidad.¹⁶

La enfermedad crónica presenta manifestaciones clínicas similares a enfermedades de la colágena como el síndrome de Sjögren y la esclerodermia.²¹ Afecta principalmente piel, mucosa oral, hígado y ojos. Existen dos formas de afección cutánea, la liquenoide o temprana y la escleromatosa o tardía. ✓

Las manifestaciones tempranas incluyen lesiones parecidas al liquen plano, en región periorbitaria, pabellones auriculares, palmas y plantas. Las lesiones tardías se caracterizan por placas escleróticas en las extremidades y superficies de presión. Se pueden encontrar cambios ungueales distróficos asociados. En la mucosa oral encontramos eritema y úlceras así como xerostomía por disfunción de las glándulas

salivares. La afección oftálmica ocurre en 60% de los casos y se caracteriza por *keratoconjuntivitis sicca*, lagofthalmos cicatrizal, conjuntivitis aséptica y uveítis.¹⁶ El involucro hepático se manifiesta clínicamente como un síndrome colestásico. A nivel torácico la bronquiolitis obliterante se manifiesta con disnea, tos, sibilancias y un patrón obstructivo en la espirometría. En algunas ocasiones pueden presentar artralgias, mialgias, serositis, trombocitopenia, eosinofilia, neutropenia y anemia hemolítica autoinmune.¹⁹

De acuerdo al grado de afección se clasifica en subclínica, limitada y extensa. (Anexo 3)

El manejo en la afección leve se puede iniciar con glucocorticoides e inmunomoduladores tópicos. Se debe considerar el tratamiento sistémico cuando hay involucro de 3 o más órganos, iniciando con corticoesteroides a una dosis de 1mg/kg/día, asociado a otros inmunomoduladores.¹⁹ El bloqueo de TNF con anticuerpos monoclonales (infiximab) y antagonistas del receptor de TNF (etanercept), se encuentra en estudio, presentando resultados alentadores.¹⁶ La principal causa de mortalidad en pacientes con EICH crónica son las infecciones. Se recomienda profilaxis antimicrobiana contra *P. jiroveci*, organismos encapsulados y virus de varicela zoster, así como monitorización continua para CMV.^{16,19}

Algunas de las estrategias que se encuentran en estudio para la prevención de la EICH incluyen: 1) Uso de regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida, con la finalidad de reducir la magnitud de la respuesta inflamatoria y con esta una menor expresión antigénica. 2) Regulación de linfocitos T del donador. El equilibrio entre linfocitos T reactivos y linfocitos T supresores podría controlar la intensidad de la EICH.¹³ En estudios recientes se ha observado que los linfocitos T reguladores CD4+CD25+ disminuyen la EICH conservando el efecto de injerto contra tumor.²² 3) Bloqueo de estímulos inflamatorios y efectores, administrando esquemas profilácticos con ciclosporina, metotrexate y corticoesteroides.^{1,11}

1.1.4. Esquemas de acondicionamiento

En los alo-TCH convencionales se emplean altas dosis de quimioterapia y/o radioterapia con la finalidad de erradicar la enfermedad maligna subyacente y

proporcionar un grado suficiente de inmunosupresión para evitar el rechazo del injerto y favorecer la toma de injerto.²³

La gran mayoría de los esquemas de acondicionamiento consisten en radioterapia combinada con agentes alquilantes, etopósido y citarabina. Se ha observado una asociación entre los esquemas de acondicionamiento intensivo y el desarrollo de EICH debido a que dichos regímenes ocasionan daño extenso a las superficies epiteliales y endoteliales, siendo más propensos a desarrollar infecciones fatales.^{2,13}

Los esquemas de acondicionamiento no-mieloablatoivo y de intensidad reducida han evolucionado tras el reconocimiento del papel que juega el sistema inmune en el control y curación de ciertas neoplasias. Surgieron tras el descubrimiento del efecto de injerto contra tumor, con la finalidad de permitir la erradicación de las células tumorales residuales por parte del sistema inmune competente del donador.²⁰

En estos, la inmunosupresión pre-trasplante está dirigida contra las células del huésped y la pos-trasplante contra las células del donador y del huésped con la finalidad de establecer una tolerancia mutua entre el injerto y el huésped, estado que se manifiesta con un quimerismo mixto.²⁴

Los esquemas de intensidad reducida presentan una menor toxicidad al huésped, permitiendo la inclusión de pacientes añosos y con otras comorbilidades a esta modalidad terapéutica.¹⁰

Diversos estudios han demostrado una menor incidencia de la EICH aguda, sin embargo no se ha comprobado su impacto sobre la prevalencia de la enfermedad crónica.^{15,20}

1.1.4.1. Esquema de acondicionamiento mexicano no mieloablatoivo

En el Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla, ubicado dentro de la Clínica Ruíz a partir de enero de 1999, se comenzó a aplicar un método de acondicionamiento de intensidad reducida que se había utilizado de manera exitosa en el Hospital Universitario de Nuevo León. Las características sobresalientes de método aplicado son la conducción extrahospitalaria de los trasplantes, el empleo de esquemas de acondicionamiento de intensidad reducida, la baja morbilidad y mortalidad de los

procedimientos, el uso disminuido de transfusiones de hemoderivados y factores de crecimiento, lo que incide en el abatimiento de los costos del procedimiento.²⁵

A continuación se describe el esquema de acondicionamiento mexicano no-mieloablato para alo-TCH:

- Donador: Administración de filgrastim (10 μ g/kg/día) en los días -5 a +2. Los procedimientos de aféresis se realizan en los días 0, +1 y +2 hasta obtener 5000-7000mL/m² en cada una proporcionando, un aproximado de 2x10⁶ células CD34+ viables por kilo de peso del receptor.
- Receptor: El régimen de acondicionamiento consiste en busulfan 4mg/kg VO en los días -6 y -5; ciclofosfamida 350mg/m² IV en los días -4, -3 y -2; fludarabina 30mg/m² IV en los días -4, -3 y -2; ciclosporina A 5mg/kg VO iniciando el día -1; y metotrexate 5mg/m² en los días +1, +3, + 5 y +11. Las aféresis se transfunden de manera inmediata los días 0, +1 y +2. La ciclosporina A se continua hasta el día 180, con ajustes de acuerdo a su concentración plasmática (150-275ng/mL). Se administra ondansetrón (1mg/hr IV durante 4 horas después de la quimioterapia), ciprofloxacino 500mg cada 12hr, fluconazol 100mg cada 6hr, aciclovir 400mg cada 12hr, suspendiéndolos hasta presentar 500/ μ l neutrófilos.^{15,26}

1.2. Antecedentes específicos

1.2.1. Asociación entre la cantidad de células CD34+ y la enfermedad de injerto contra huésped.

Se ha demostrado que al emplear injertos con cantidades elevadas de células CD34+ se alcanza una recuperación más rápida de las cuentas de neutrófilos y plaquetas, sin embargo no se ha definido su impacto sobre la incidencia de la EICH.²⁰ La infusión de altas cantidades de células CD34+ se ha asociado con una disminución en la tasa de recaída y de mortalidad relacionada al trasplante, y con mayores tasas de supervivencia libre de enfermedad.²⁷

Por otro lado, se ha asociado con un incremento en la tasa de EICH aguda y crónica.^{27,28}

El mecanismo por el cual las cantidades elevadas de células CD34+ reducen la tasa de recaída no ha sido dilucidado. Se ha sugerido que las concentraciones altas de CD34+ mejoran la recuperación inmunológica, induciendo un mayor efecto de injerto contra tumor.²⁷

Comparado con la médula ósea, los trasplantes de sangre periférica contienen mayor cantidad de células nucleadas, CH CD34+ y linfocitos CD3+. En reportes previos se encontró una asociación estadísticamente significativa entre dosis elevadas de CD34+ y EICH crónica, sin embargo, la correlación con la enfermedad aguda no fue significativa. En los pacientes con sobrevida mayor a 100 días post-trasplante se encontró una supervivencia libre de recaída con dosis menores de CD34+, debido a una mayor mortalidad por EICH crónica en los injertos con dosis altas.²⁹

En los alo-TCH el uso de sangre periférica y altas concentraciones de CD34+ se ha relacionado con una mayor incidencia de EICH crónica, convirtiéndola en la primera causa de mortalidad no asociada a la recaída.¹⁵ Esto se puede explicar por el efecto que el G-CSF ejerce sobre los linfocitos T, reduciendo la producción de citocinas proinflamatorias e induciendo una respuesta tipo Th2.^{14,29}

A continuación se resumen los resultados de algunos estudios relacionados

Autor	Tipo, lugar y fecha del estudio	Población	Cantidad media de CD34+/kg	Corte dosis alta/baja	EICH aguda	EICH Crónica
Urbano-Ispizua et al ³⁰ (2001)	Cohorte Hospital Clínic de Barcelona Marzo 1995 a Diciembre 2000	84 pacientes adultos Neoplasias hematológicas HLA idénticos emparentados Esquemas variables	3.9x10 ⁶	Baja: 1-3x10 ⁶ Alta: >3x10 ⁶	General: Grado I: 24 (28%), Grado II: 6 (7%) Grados I-IV: 28% vs. 38%	General: Limitada: 8 (9.5%) Extensa: 5 (6%) Extensa: 0% vs. 12%
Maciej-Zauchka et al ³¹ (2001)	Retrospectivo Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA. Marzo 1996 a Diciembre 1999	181 pacientes Neoplasias hematológicas HLA idénticos emparentados	8.0x10 ⁶	Baja: <8x10 ⁶ Alta: >8x10 ⁶	General Grados II-IV: 117(67.6%) 62 (73%) vs. 55 (63%) Sin significancia estadística	General extensa: 81 (44.75%) 32 (36%) vs. 49 (53%) HR 2.3 (p=0.001)

Autor	Tipo, lugar y fecha del estudio	Población	Cantidad media de CD34+/kg	Corte dosis alta/baja	EICH aguda	EICH Crónica
Cantú-Rodríguez et al (2001)	Hospital Universitario de Monterrey CHMI Puebla 1998-2008	201 pacientes alo-TCH (SP) HLA compatible (4,5,6/6) Esquema de intensidad reducida	4.56x10 ⁶	Baja: ≥5x10 ⁶ Alta: ≥8x10 ⁶	General HR 1.66 (p=0.06) HR 0.58 (p=0.14)	General HR 1.14 (p=0.65) HR 0.79 (p=0.55)
Perez-Simon et al ²⁸ (2003)	Cohorte Hospital Clínico Universitario de Salamanca; Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. Mayo 1998 a Enero 2002	86 pacientes (<45 años) Neoplasias hematológicas HLA idénticos emparentados Esquema de intensidad reducida	5.68x10 ⁶	Baja: <p75 Alta: >p75	General: 37 (43%), Grados II-IV: 26 (30%) Sin asociación con la cantidad de CD34+	General: 48 (57.8%), Limitada: 22 (26%) Extensa: 26 (31.3%) Extensa (p75): 74% vs. 47% (p=0.02)
Tsirigotis et al ³² (2010)	Hospital Universitario de Jerusalén, Israel 1997 a 2005	103 pacientes Neoplasias hematológicas 74 HLA-idénticos emparentados, 29 HLA-compatible no relacionado	10x10 ⁶	Baja: <10x10 ⁶ Alta: >10x10 ⁶	General Grados II-III: 35% Grados III-IV: 20% HR 0.899 (p=0.703)	General: 32/75 (43%) Extensa: 23% HR 1.857 (p= 0.101)