

TRASPLANTE HEMATOPOYETICO ALOGENICO CON CELULAS PROGENITORAS EXTRAIDAS DE LA SANGRE PERIFERICA

GUSTAVO KUSMINSKY, MARIA CECILIA FONCUBERTA, LUIS AVERSA, GUILLERMO DRELICHMAN,
DANIEL FREIGEIRO, RUBEN BURGOS, CELICA IRRAZABAL, GUSTAVO GONZALEZ, MIGUEL DICTAR,
RICARDO NIBORSKI, ABRAHAM KOHAN, JULIO C. SANCHEZ AVALOS

Unidad de Trasplante de Médula Osea, Instituto Médico Alexander Fleming, Buenos Aires

Resumen Cincuenta y tres pacientes (ptes) recibieron trasplante alogénico con células progenitoras extraídas de la sangre periférica (PSP); 25 ptes eran mujeres y 28 varones. La edad media del grupo fue de 20 años, (rango 2-55). Los diagnósticos fueron leucemia mieloide aguda (LMA) en 16 ptes, leucemia linfoblástica aguda (LLA) en 15, leucemia mieloide crónica (LMC) en primera fase crónica en 12, aplasia medular en 4, síndrome mielodisplásico en 3 y Enfermedad de Hodgkin en recaída luego de trasplante autólogo, talasemia mayor y síndrome de Hunter en 1 caso, respectivamente. Los acondicionamientos fueron en 38 ptes radioterapia corporal total 1 200 cGy y ciclofosfamida 120 mg/kg EV; en 10 ptes busulfán 16 mg/kg y ciclofosfamida 120 mg/kg EV, 3 ptes radioterapia linfóide total (RLT) y ciclofosfamida, 2 ptes con otros agentes quimioterápicos. Los PSP se infundieron a través de un catéter sin ningún tipo de manipulación. La profilaxis de injerto vs huésped (EICH) se realizó con ciclosporina y metotrexato. Los donantes fueron familiares con HLA compatibles 6/6 y un caso 5/6 de los antígenos. Previo a la extracción de PSP, recibieron G-CSF (filgrastim) 10 µg/kg/día sc. cuatro días. El quinto día se realizó la fésesis, en los primeros treinta casos se hizo la extracción adicional de médula ósea. Las medias de CD34, CD3, CD4, CD8, CD56, CD19 (cel x 10⁶/kg de peso) 4.12; 4.59; 2.57; 1.9; 0.55 y 0.68 respectivamente. La mediana de recuperación de neutrófilos > 500 se obtuvo el día +11 y de plaquetas > 20 000, +13. El tiempo de internación medio fue de 26 días (18-39) y la media de días con antibióticos parenterales fue de 12.2 días (5-45). La mortalidad relacionada al trasplante fue del 15%. EICH aguda se observó en el 43.4% de los ptes, con sólo 5 ptes con EICH aguda grado III o IV. En 43 ptes se pudo evaluar la aparición de EICH crónica con un tiempo medio de seguimiento de 18 meses (4-39). En la presente experiencia el trasplante de PSP alogénicos mantuvo una aceptable incidencia de EICH crónica; dados los recientes informes de aumento de esta complicación, parece lógico desaconsejar el uso de PSP en patología no maligna en la que no importaría la potencia del efecto injerto versus leucemia.

Abstract *Allogeneic hematopoietic transplantation with peripheral blood progenitor cells.* Fifty three patients (pts) received an allogeneic hematopoietic transplant using peripheral blood progenitor cells (PBPC). Diagnosis were acute myeloid leukemia (AML) in 16 pts, acute lymphoblastic leukemia (ALL) in 15, chronic myeloid leukemia (CML) in first chronic phase in 12, aplastic anemia in 4, myelodysplasia in 3 and Hodgkin's disease, major thalassemia and Hunter's syndrome in one each. Mean age was 20 years-old (2-55), 28 males and 25 females. Conditioning regimens were total body irradiation with 1200 cGy and cyclophosphamide 120 mg/kg in 38 pts, busulfan 16 mg/kg and cyclophosphamide 120 mg/kg in 10 pts, total lymphoid irradiation and cyclophosphamide in 3, 2 pts received other chemotherapy based conditionings. PBPC were infused unmanipulated through a central catheter. Graft versus host disease (GVHD) prophylaxis was cyclosporin and short course methotrexate. Donors were 6/6 HLA compatible siblings in 52 cases and 5/6 match in one case. PBPC mobilization was done with G-CSF at a dose of 10 µg/kg/day subcutaneously for four days, pheresis started on day 5. Bone marrow harvest was also done in the first thirty cases. Mean cellularities for CD34, CD3, CD4, CD8, CD56, CD19 (cel x 10⁶/kg) were 4.12; 4.59; 2.57; 1.9; 0.55 and 0.68, respectively. Mean recovery of neutrophils > 500/µL was obtained on day + 11 and platelets > 20 000/µL on day +13. Patients were hospitalized for a mean period of 26 days (range 18-39) and days with parenteral antibiotics were 12.2 (5-45). Two pts had venoocclusive disease of the liver. Transplant related mortality was 15%. Acute graft versus host disease (GVHD) was observed in 43.4% of pts, only 5 pts had acute GVHD III or IV. Mean time for aGVHD diagnosis was +23 (8-76). Forty three pts were evaluable for chronic GVHD with a mean follow-up of 18 months (4-39). Chronic GVHD was observed in 26.4% by day +240, only 2 pts developed severe cGVHD. The present experience demonstrates an acceptable incidence for cGVHD; however, taking into account recent reports showing an increase of this complication, it seems reasonable not to perform this procedure for non-malignant diseases in which graft versus malignancy effect is not to be expected.

Key words: bone marrow transplantation, peripheral blood progenitor cells, allogeneic hematopoietic transplantation

El trasplante de médula ósea ha evolucionado sostenidamente desde sus inicios a fines de la década de los cincuenta. Desde entonces, los progresos han sido considerables, y uno de los hitos fundamentales de este crecimiento lo ha constituido la utilización de progenitores hematopoyéticos circulantes en la sangre periférica, empleados inicialmente en el contexto de trasplante autólogo y cuya expansión se produjo durante los años ochenta. Estos progenitores han podido ser movilizados en grandes cantidades a la sangre periférica desde sitios por otro lado de difícil acceso, gracias al empleo de factores de crecimiento hematopoyético, luego de una quimioterapia o combinando ambas modalidades^{1, 2, 3}. El grupo de la Universidad de Nebraska realizó la primera experiencia clínica de trasplante alogénico utilizando progenitores de la sangre periférica (PSP). En este ensayo hubo una efectiva demostración de recuperación de todos los linajes linfo-hematopoyéticos en el receptor⁴, si bien en trabajos preclínicos ya se había establecido la posibilidad de este procedimiento⁵.

Debido a obvias razones éticas, la movilización de PSP en donantes normales no puede realizarse con quimioterapia, y debe efectuarse sólo con factores de crecimiento hematopoyético con eficacia probada y cuyos efectos secundarios sean aceptables para una persona normal. De las distintas citoquinas de las que se disponen en la actualidad, es el factor de crecimiento de colonias granulocíticas (G-CSF) el que se ha aceptado universalmente para este uso por su bajo perfil tóxico en lo inmediato^{6, 7}. Se ha establecido recientemente un consenso internacional sobre el uso de G-CSF en donantes normales y su evaluación a largo plazo⁸.

En los últimos cinco años se ha incrementado el número de centros que comunicaron resultados alentadores con trasplantes alogénicos empleando precursores tomados mediante técnicas de aféresis de la sangre periférica de donantes normales. Luego del optimismo inicial, diversas publicaciones dieron cuenta de la posibilidad de un aumento de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH) crónica en los receptores de estos trasplantes^{9, 10}, hallazgo controvertido e incluso refutado por otros¹¹.

En la presente experiencia, se exponen los resultados de trasplante alogénico con PSP en la Unidad de Trasplante de Médula Osea del Instituto Médico Alexander Fleming.

Materiales y métodos

Pacientes: Cincuenta y tres pacientes recibieron trasplante alogénico con PSP (Ver Tabla 1). Veinticinco pacientes eran de sexo femenino y 28 de sexo masculino. La edad media del grupo fue de 20 años, (rango 2-55). Los diagnósticos fueron leucemia mieloide aguda (LMA) en 16 pacientes, leucemia linfoblástica aguda (LLA) en 16 pacientes, leucemia linfoblástica aguda (LLA) en 15, leucemia mieloide crónica (LMC)

TABLA 1.- Características de los pacientes

Número de pacientes	53
LMA	16
LLA	15
LMC	12
AA	4
MDS	3
S. Hunter	1
Talasemia mayor	1
E. Hodgkin	1
Edad (mediana)	20
Rango	2-55
Hombres/Mujeres	28/25
Esquema de acondicionamiento	
RCT/CFM	38
Busulfán/CFM	10
RLT/CFM	3
Otros	2

LLA: leucemia linfoblástica aguda, LMA: leucemia mieloide aguda, LMC: leucemia mieloide crónica, AA: anemia aplásica, MDS: mielodisplasia. RCT: radioterapia corporal total, CFM: ciclofosfamida, RLT: radioterapia linfóide total

en primera fase crónica 12, aplasia medular en 4, síndrome mielodisplásico en 3 y Enfermedad de Hodgkin con recaída luego de trasplante autólogo, talasemia mayor y síndrome de Hunter con 1 caso respectivamente.

Los tratamientos mieloablativos que recibieron los pacientes antes del trasplante (esquemas de acondicionamiento) fueron en 38 casos radioterapia corporal total 1 200 cGy fraccionados en 8 dosis seguidas de ciclofosfamida 60 mg/kg EV por dos días consecutivos (RCT/CFM); en 10 pacientes se administró busulfán por vía oral en dosis de 4 mg/kg/día durante cuatro días consecutivos y ciclofosfamida 60 mg/kg EV por dos días (Bu/CFM). Tres pacientes con aplasia medular recibieron como acondicionamiento radioterapia linfóide total (RLT) y ciclofosfamida en igual dosis a los esquemas anteriores. En dos casos se utilizaron esquemas de quimioterapia en altas dosis con distintos agentes antineoplásicos.

Los progenitores hematopoyéticos se infundieron a través de un catéter venoso central sin ningún tipo de manipulación. El día de la infusión fue considerado el día 0 del trasplante.

Profilaxis y gradación de enfermedad de injerto contra huésped (EICH): La profilaxis de EICH se realizó en todos los casos de acuerdo al clásico esquema acordado de Seattle: ciclosporina desde el día previo al trasplante (día -1) 3 mg/kg/día, ajustada de acuerdo a niveles de ciclosporinemia para mantenerla en rango terapéutico y metotrexato EV días +1 (15 mg/m²) y días +3, +6, +11 en dosis de 10 mg/m². La cuantificación de las lesiones de EICH en su forma aguda y en su forma crónica se efectuaron de acuerdo a los criterios internacionales aceptados^{12, 13}.

Donantes: Los donantes fueron familiares con identidad completa en el grupo mayor de histocompatibilidad en 52 de los casos y un caso con identidad en 5/6 de los antígenos. En 13 casos los donantes fueron femeninos y los receptores masculinos, 7 donantes masculinos a receptores femeninos, siendo 33 trasplantes los que se realizaron entre donantes y receptores del mismo sexo. Previo a la extracción de progenitores, los donantes recibieron G-CSF (filgrastim) en dosis de 10 µg/kg/día por vía subcutánea durante cuatro días consecutivos.

El quinto día se realizó la hemaféresis, empleando un separador de flujo continuo (Fresenius) a través de un acceso venoso periférico en ambos brazos realizando un procedimiento de 6 volemias en cada donante. En los primeros treinta casos se realizó la extracción adicional de médula ósea. En estos casos el procedimiento se realizó con las técnicas habituales, llevando al paciente a sala de operaciones y extrayendo bajo anestesia general un volumen mínimo que asegurara la obtención 2×10^8 células nucleadas por kg/receptor.

Estudios inmunofenotípicos: El inmunofenotipo se realizó utilizando un citómetro de flujo determinando la presencia de las poblaciones que expresen los siguientes antígenos: CD34, CD3, CD4, CD8, CD19, CD56. Se estudió la presencia de poblaciones celulares que expresen estos antígenos en los PSP y se los comparó con los tomados de la médula ósea de los donantes.

Documentación del crecimiento del alotrasplante (prendimiento): Se efectuó mediante el análisis de la existencia de quimerismo celular, a través de la demostración de cromosoma sexual diferente en el estudio citogenético en los casos de trasplante con receptor y donante de distinto sexo. En los restantes casos, el quimerismo se determinó mediante la secuenciación de fragmentos de restricción de polimorfismo del ADN.

Resultados

Donantes: La administración de G-CSF fue bien tolerada en todos los donantes. Todos manifestaron dolor óseo moderado que cedió con la administración de paracetamol. En todos los casos excepto uno fue posible realizar el procedimiento de aféresis de aproximadamente 4-6 horas mediante el acceso venoso periférico en

ambos brazos. En un caso fue necesaria la colocación de un catéter venoso central.

Celularidad obtenida: En todos los procedimientos se superó el número mínimo de células como para una segura recuperación de la hematopoyesis. Las medias, expresadas en células $\times 10^6$ /kg de peso del receptor de las células progenitoras que expresan el antígeno CD34, y células $\times 10^8$ /kg de peso del receptor en el resto, fueron mayores en los PSP extraídos que las obtenidas en la médula ósea (Ver Tabla 2). En cuatro casos con receptores marcadamente mayores en peso que sus donantes, las cifras de células progenitoras hematopoyéticas obtenidas de la sangre periférica permitieron valores adecuados de CD34 tras la realización de un único procedimiento de aféresis (Ver Tabla 3). En un grupo de 15 donantes se determinó la cinética de células CD34 en sangre periférica inicialmente y durante la aféresis. El número basal de CD34 en sangre periférica fue de 1.7×10^6 /kg \pm 0.7 luego del período de estimulación con G-CSF, cayendo luego de la 2^{nda} a 1 ± 0.4 ; luego de la 4^{ta} a 0.7 ± 0.5 y posteriormente a la 6^{ta} volemia a 0.7 ± 0.34 (ver Fig. 3). Pese a esta disminución sostenida de las células CD34 en la sangre periférica del donante, el número total de células CD34 recolectadas en el producto de PSP mantuvo un aumento progresivo en los valores de CD34: 2.3×10^6 /kg luego de procesar 2 volemias; 6.4×10^4 /kg luego de 4 volemias y 11.6×10^6 /kg luego de la 6^a volemia. Estos valores fueron comparados con los basales, en-

TABLA 2.— *Celularidades obtenidas. Comparación PSP y médula ósea inmunofenotipo*

Células	PSP		PMO	
	Media*	Rango*	Media*	Rango*
CD34+	4.12×10^6	$1-15 \times 10^6$	2.37×10^6	$0.4-5.2 \times 10^6$
CD3+	4.59×10^8	$2.1-9.8 \times 10^8$	0.17×10^8	$0.1-0.9 \times 10^8$
CD4+	2.57×10^8	$1.01-6.04 \times 10^8$	0.05×10^8	$0.032-0.23 \times 10^8$
CD8+	1.9×10^8	$1.03-3.24 \times 10^8$	0.08×10^8	$0.06-0.18 \times 10^8$
CD56+	0.55×10^8	$0.32-0.92 \times 10^8$	0.03×10^8	$0.01-0.05 \times 10^8$
CD19+	0.68×10^8	$0.42-3.21 \times 10^8$	0.06×10^8	$0.01-0.22 \times 10^8$

PSP = progenitores de la sangre periférica

PMO = progenitores de la médula ósea

* Resultados expresados con relación a kg de peso del receptor

TABLA 3.— *Disparidad de peso entre donante y receptor. Celularidad (CD34+) obtenida en PSP del donante*

Paciente	Diagnóstico	Receptor		Donante		CD34 en PSP $\times 10^6$ /kg peso receptor
		Edad años	Peso kg	Edad años	Peso kg	
LM	LMA	15	50	8	25	5.2
JM	LMA	9	38	3	23	6.8
CV	AA	17	57	10	35	1.6
AF	LLA	7	25	1	14	3.3

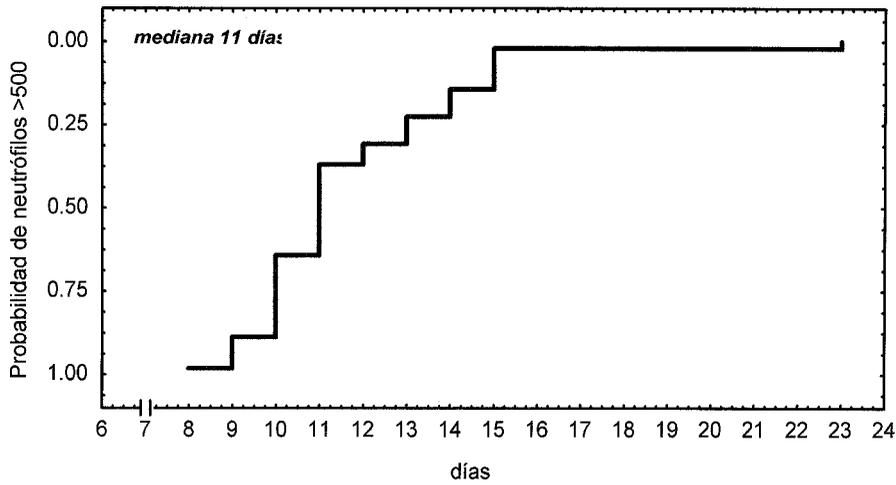


Fig. 1.- Tiempo actuarial para la recuperación de neutrófilos luego del trasplante

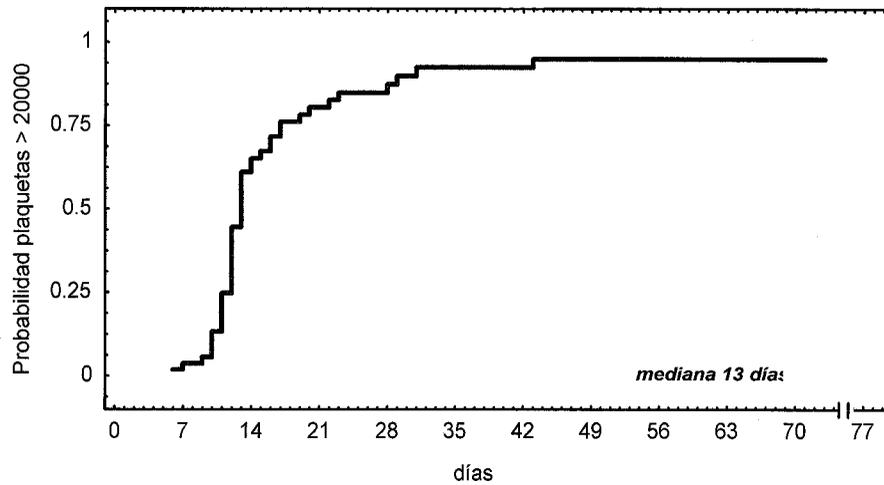


Fig. 2.- Tiempo actuarial para la recuperación de plaquetas luego del trasplante

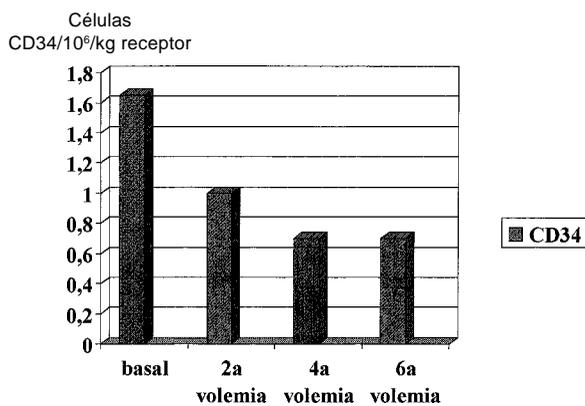


Fig. 3.- Cinética de los valores de células CD34+ en sangre periférica de donantes durante la leucoféresis

contrándose estas diferencias significativas en todos los casos ($p < 0.004$, prueba de Wilcoxon).

Recuperación hematopoyética y quimerismo: Fueron evaluables 51 pacientes para recuperación hematopoyética. Todos ellos presentaron recuperación de neutrófilos. Dos pacientes fallecieron antes de poder evaluar recuperación de plaquetas. La media de recuperación de neutrófilos > 500 se obtuvo el +11. La media de recuperación de plaquetas $> 20\ 000/\mu\text{l}$ se obtuvo el día +13 (Ver Fig. 1 y 2). Los requerimientos medios transfusionales por paciente fueron 4 U de glóbulos rojos desplasmatisados y 6.5 unidades de plaquetas (donante único). Todos los productos sanguíneos fueron irradiados con 2 500 rads y se infundieron a través de un filtro para leucocitos de 3 logaritmos de efectividad. En todos los casos con recuperación hematopoyética se documentó quimerismo

completo con hematopoyesis del donante de acuerdo a la metodología antes mencionada.

Toxicidades, EICH aguda y crónica: El tiempo de internación medio en la Unidad de trasplante fue de 26 días (18-39) y la media de días con antibióticos parenterales fue de 12.2 días (5-45). En dos casos se diagnosticó enfermedad venosa oclusiva del hígado, lo que representa una incidencia del 3.8% en la presente serie. La mortalidad relacionada al trasplante se produjo en 8 pacientes, lo que representa el 15%. Esta fue atribuible a EICH en 3 pacientes, fallo multiorgánico en 1 paciente, enfermedad venosa oclusiva del hígado en 2

TABLA 4.- Causas e incidencia mortalidad relacionada al trasplante

Causa de mortalidad	Número pacientes	Porcentaje
EICH aguda	3	5.66
Fallo multiorgánico	1	1.88
Enfermedad venooclusiva del hígado	2	3.77
Hemorragia del sistema nervioso central	2	3.77

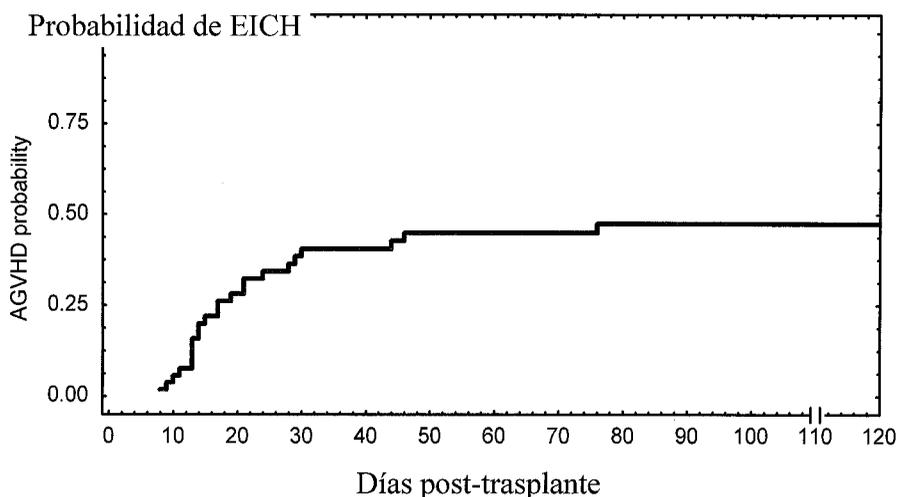


Fig. 4.- Incidencia actuarial de enfermedad de injerto contra huésped aguda luego del trasplante

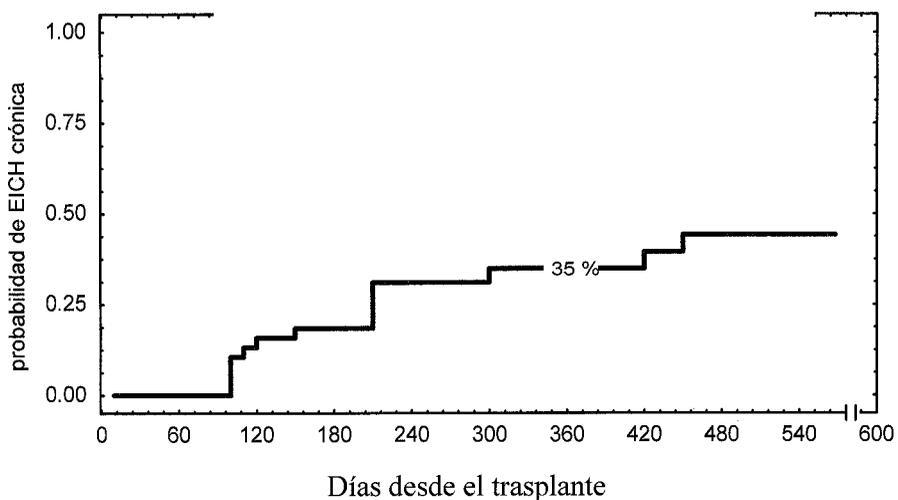


Fig. 5.- Incidencia actuarial de enfermedad de injerto contra huésped crónica luego del trasplante

TABLA 5.— Incidencia y sitios de compromiso de enfermedad de injerto contra huésped crónica

Pacientes evaluables	40
Media de seguimiento	17 meses (4-39)
EICH crónica extensa severa	2
Compromiso piel	6
Compromiso hígado	2
Compromiso hígado y piel	2
Compromiso ocular	1
Compromiso oral	1

pacientes y hemorragia en el sistema nervioso central en 2 casos (ver Tabla 4). Tres pacientes con leucemias agudas fallecieron antes del día 100 por recaída temprana de su enfermedad.

La EICH aguda se observó en 23 pacientes, es decir en el 43.4% de los pacientes trasplantados, sin embargo, sólo 5 pacientes presentaron EICH aguda grado III o IV de acuerdo a los criterios establecidos. De ellos, 3 fallecieron como ya se dijo a consecuencia de esta complicación (ver Fig. 4). El tiempo medio de aparición de EICH aguda fue en el día +23 (8-76).

En 43 pacientes se pudo evaluar la aparición de EICH crónica. El tiempo medio de seguimiento en esta población es de 18 meses (4-39). Catorce pacientes desarrollaron EICH crónica (26.4%), en 4 casos de manera progresiva luego de EICH aguda. En dos pacientes la EICH crónica fue extensa y severa, el resto presentó formas localizadas de EICH crónica: cutánea en 6, hepático en 2, cutáneo y hepático en 2, ocular en 1 y en fauces en 1. El tiempo medio de aparición de EICH crónica fue el día +240 (110-450) (ver Tabla 5 y Fig. 5).

Discusión

Existen evidencias preclínicas que permiten establecer que los PSP tienen la capacidad de reconstituir en forma completa y prolongada la hematopoyesis normal^{5, 14, 15}. Luego de los primeros resultados publicados en pequeños números de pacientes, las cifras han mostrado un continuo ascenso de trasplantes alogénicos que utilizan PSP como fuente de reconstitución hematopoyética, para llegar en los datos recientes del Registro Internacional de Trasplante de Médula Osea y del Grupo Europeo de Trasplante de Sangre y Médula Osea a constituir cerca del 20% de todos los trasplantes alogénicos realizados^{16, 17}.

En la presente experiencia se determinó la factibilidad, toxicidad y consecuencias clínicas del empleo de PSP para trasplante alogénico con donantes familiares HLA compatibles. Los efectos colaterales en los donantes tras la administración de G-CSF fueron coherentes con aque-

llos que se han descrito previamente en la literatura^{8, 18, 19}. La movilización con dosis de 10 µg/kg/día en una única aplicación diaria demostró obtener un número adecuado de progenitores, aun en aquellos casos con una marcada desproporción del peso del donante con respecto al receptor, lo que evita la necesidad de transfundir en casos de extracción de progenitores de médula ósea. Nuestro grupo había comunicado previamente las variaciones cinéticas de células CD34 durante el procedimiento de aféresis en donantes normales para trasplante alogénico²⁰. Si bien fue notable la progresiva reducción de las células CD34 en la sangre periférica del donante durante el proceso de aféresis, el número total de estas células en el producto recolectado mostró un constante incremento. Se consideró que a mayor cantidad de volemias procesadas, es mayor el número de CD34 recolectadas, aun a pesar de la disminución en sangre periférica, lo cual es probablemente debido a una constante liberación de células progenitoras por los órganos centrales hematopoyéticos desencadenados durante la aféresis. El número de progenitores hematopoyéticos determinados indirectamente a través de las células CD34 presentes en los productos recolectados permitió la experiencia inicial de utilizar PSP y médula ósea en trasplantes hematopoyéticos alogénicos²¹. El número de células progenitoras recolectadas permite asegurar el éxito del trasplante, existiendo una relación proporcionalmente directa entre este valor y el tiempo de recuperación hematológica²², así como la posibilidad de mantener la hematopoyesis por tiempo prolongado²³. En algunos estudios recientes se ha podido comprobar que los trasplantes realizados con PSP produjeron recuperaciones hematopoyéticas más veloces que aquellos que se realizaron con médula ósea^{10, 24}.

Todos los pacientes evaluables mostraron recuperación de la serie mieloide, con un rápido ascenso de neutrófilos, que superaron los niveles críticos de neutropenia hacia el día +15 (media) y de plaquetopenia hacia el día +19 (media). En los estudios comparativos de PSP contra médula ósea ha sido evidentemente significativa la diferencia de la velocidad de restablecimiento de los niveles cuantitativos de plaquetas en la sangre circulante^{10, 25}, mientras que la diferencia sobre neutrófilos no ha sido notable^{10, 26}.

El análisis de las subpoblaciones linfocitarias en el presente estudio, ha demostrado que las recolecciones de PSP tienen una carga francamente superior de linfocitos T competentes, expresados por elevadas cantidades de células que expresan CD3, CD4, CD8. Esta situación ya ha sido comunicada en otros trabajos internacionales^{24, 25}. Estas diferencias pueden ser entre 10 y 20 veces mayores que las cantidades de estas células presentes en las recolecciones de médula ósea. Aparte de las consideraciones sobre EICH y del fenómeno de injerto contra leucemia, los números elevados de célu-

las linfoides permiten en estos pacientes una recuperación inmune acelerada con respecto al trasplante de progenitores provenientes de la médula ósea, tal como se ha demostrado²⁷. La cantidad masiva de células T en PSP hizo suponer que los trasplantes sin manipulaciones *ex vivo* debieran asociarse a una mayor incidencia de EICH aguda, y a formas hiperagudas de la misma. Sin embargo, la EICH aguda en estos trasplantes se ha presentado sin diferencias o aun más atenuada que en el trasplante alogénico con progenitores de médula ósea²⁸. La incidencia de EICH aguda en nuestros pacientes no ha sido llamativamente elevada, y la mortalidad debido a esta complicación en sus formas severas se encuentra dentro de los valores habituales para series internacionales o locales²⁹. La baja probabilidad de desarrollar EICH aguda en trasplantes con PSP pese a la abundancia de linfocitos T, probablemente se pueda atribuir a dos motivos. El primero de ellos se encontraría determinado porque la movilización con G-CSF induce una diferenciación preferente de linfocitos T cooperadores hacia células T_{H2} y no T_{H1} . De este modo, las recolecciones de PSP serían pobres en T_{H1} , y estas células precisamente han sido implicadas en la fisiopatología de la EICH aguda^{30, 31}. La segunda explicación estaría sustentada por tener las células PSP más de 2 logaritmos de monocitos que la médula ósea, los que también podrían actuar como supresores de la función T ³².

El tema abierto al debate en la actualidad se encuentra representado por la aparición de una mayor incidencia de EICH crónica en estos pacientes. La mayor incidencia de EICH crónica ha sido explicada por una probable pérdida con el tiempo del predominio T_{H2} con una progresiva reconstitución del sistema inmune. Nuestro estudio no ha encontrado una desusada cantidad de EICH en su forma crónica, ni tampoco mayor frecuencia de formas graves de este complejo síndrome. La primera de las advertencias en relación con el aumento de EICH crónica fue señalada desde Seattle, en la publicación de Storek y sus colaboradores⁹. Otros centros de trasplante de médula ósea se sumaron al reclamo de cautela para este tipo de trasplantes; algunos de estos estudios fueron comparaciones prospectivas aleatorizadas^{10, 25}. Sin embargo, ninguna de estas publicaciones demostró un efecto negativo en la tasa global de supervivencia en los grupos comparados. También resulta de interés que en otros centros de reconocido prestigio, como el grupo de trasplante de la Universidad de Nebraska, no haya sido observado el aumento de los casos de EICH crónica¹¹, tal como ha sido nuestra experiencia y la de otros^{33, 34}.

Tampoco ha podido establecerse certeramente si el aumento de EICH crónica trae en paralelo el aumento del fenómeno de injerto contra leucemia, tal vez la acción más potente del trasplante alogénico—más aún que el esquema de acondicionamiento— y una de las formas

más estudiadas de terapia celular adoptiva en enfermedades neoplásicas humanas. Este efecto injerto contra leucemia ha demostrado ser el responsable del éxito terapéutico en los pacientes con leucemia mieloide crónica que recaen luego de un trasplante alogénico donde la transfusión de linfocitos del dador ha pasado a ser el tratamiento de elección en esta situación^{35, 36}. Recientemente el grupo de trasplante de la Universidad de Essen ha comunicado una significativa disminución de la recaída post-trasplante en pacientes con leucemia mieloide crónica que recibieron un trasplante con PSP comparados con un grupo similar que recibió los progenitores de la médula ósea³⁷. Si bien esta experiencia parece lógica desde la perspectiva del refuerzo del efecto injerto contra leucemia, debe ser cuidadosamente evaluada esta posibilidad en estudios de mayor volumen de pacientes, como ha sido señalado³⁸. También ha podido ser evaluado el efecto injerto contra neoplasia en otras patologías fuera de las leucemias, como en mieloma múltiple³⁹ y en cáncer de mama⁴⁰, pero por el momento intentar generar injerto contra enfermedad fuera del contexto oncohematológico debe reservarse a estudios experimentales.

En conclusión, nuestra experiencia permite afirmar que la utilización de PSP para trasplante alogénico es una modalidad factible asociada a recuperación hematológica rápida y sostenida. Si bien la incidencia de EICH aguda no se encuentra aumentada, la de EICH crónica merece un seguimiento minucioso en el tiempo. La media de seguimiento en nuestro grupo (17 meses) constituye un período aceptable para esperar el desarrollo de la complicación. Teniendo en cuenta esta controversia, parece razonable dejar de utilizar PSP en patologías no malignas, como síndromes de fallo medular y alteraciones congénitas del metabolismo, donde no se espera que el efecto injerto contra enfermedad (asociado tal vez al aumento de EICH crónica) aporte beneficioso alguno.

El futuro del trasplante hematopoyético alogénico se encuentra íntimamente ligado al uso y manipulación de PSP, tal vez separando las células CD34 por técnicas de selección positiva⁴¹. Se ha probado que grandes dosis de células alogénicas CD34, deplecionadas de células T por técnicas altamente específicas, son capaces de vencer la barrera del grupo mayor de histocompatibilidad en el trasplante haploidéntico utilizando donantes familiares, que de otro modo serían considerados donantes imposibles⁴². Dado que la mayor efectividad del trasplante alogénico reside en el efecto injerto contra leucemia, esto podría ser producido sin ablacionar completamente la médula ósea existente, creando quimeras mixtas en los que han dado en llamarse mini trasplantes, o trasplantes light⁴³. Grandes cantidades de células progenitoras permitirán también la manipulación genética de las mismas para solucionar situaciones en

las cuales la célula madre totipotente sea el vector adecuado. Resta aguardar los resultados de estos estudios para poder situar a este tipo de trasplantes en la ubicación que le corresponderá a las puertas del próximo e inminente siglo.

Bibliografía

- Sheridan WP, Begley CG, Juttner CA, et al. Effect of peripheral blood progenitor cells mobilised by filgrastim on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet* 1992; 339: 640-4.
- Gianni AM, Siena S, Bregni M, et al. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor to harvest circulating haemopoietic stem cells for autotransplantation. *Lancet* 1989; 2: 580-5.
- To LB, Roberts MM, Haylock DN, et al. Comparison of haematological recovery times and supportive care requirements of autologous phase peripheral blood stem cells transplants, autologous bone marrow transplants, and allogeneic bone marrow transplants. *Bone Marrow Transplant* 1992; 9: 255-84.
- Kensinger A, Smith DM, Strandjord SE, et al. Allogeneic transplantation of blood derived T cell-depleted hemopoietic stem cells in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1989; 4: 643-6.
- Körbling M, Fliedner TM, Calvo W, Ross WM, Northdurft W, Steinbach I. Albumin density gradient purification of canine hemopoietic stem cells (HBSC): Long term allogeneic engraftment without GVH reaction. *Exp Hematol* 1979; 7: 277-88.
- Bensinger WI, Price TH, Dale DC, et al. The effects of daily recombinant granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood* 1993; 81: 1883-8.
- Caspar CB, Seger RA, Burger J, Gmur J. Effective stimulation of donors for granulocyte transfusions with recombinant methionyl granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1993; 81: 2866-71.
- Anderlini P, Körbling M, Dale D, et al. Allogeneic blood stem cell transplantation: Considerations for donors. *Blood* 1997; 90: 903-8.
- Storek J, Gooley T, Siadak M, et al. Allogeneic blood stem cell transplantation may be associated with a high risk of chronic graft versus host disease. *Blood* 1997; 90: 4705-9.
- Solano C, Martínez C, Brunet S, et al. Chronic graft versus host disease after peripheral blood progenitor cell or bone marrow transplantation. A case control study. *Bone Marrow Transpl* 1998; 22: 1129-35.
- Pavletic S, Tarantolo S, Oria N, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation is not associated with a high risk of chronic graft versus host disease. *Blood* 1998, (suppl 1) 92: 1883.
- Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft versus host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18: 295-304.
- Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, et al. Chronic graft versus host syndrome in man. A long term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med* 1980; 69: 204-17.
- Epstein RB, Graham TC, Buckner CD, et al. Allogeneic marrow engraftment by cross circulation in lethally irradiated dogs. *Blood* 1966; 28: 692-707.
- Carbonell F, Calvo W, Fliedner TM, et al. Cytogenetics studies in dogs after total body irradiation and allogeneic transfusion with cryopreserved blood mononuclear cells. Observations in long-term chimeras. *Int J Cell Cloning* 1984; 2: 81-8.
- International Blood and Marrow Transplantation Registry, data on file 1997.
- Gratwohl A, Hermans J, Baldomero H, for the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Blood and marrow transplantation activity in Europe 1995. *Bone Marrow Transplantation* 1997; 19: 407-19.
- Anderlini P, Przepiorka D, Champlin R, et al. Biological and clinical effects of granulocyte colony-stimulating factor in normal individuals. *Blood* 1996; 88: 2819-25.
- Grigg AP, Roberts AW, Raunow H, et al. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 1995; 86: 4437-45.
- Niborski R, Kohan A, Olivera W, et al. CD34 positive cells kinetics during large volume leukapheresis in donors for allogeneic peripheral blood progenitor cells (pbpc). *Blood* 1997 (Supp 1); 4845.
- Kusminsky G, Zylberman M, Foncuberta MC, et al. Peripheral blood progenitor cells and bone marrow for allogeneic transplantation 2nd International Symposium on Allogeneic Peripheral blood and cord blood transplantation. Geneva, Switzerland. Oct 1997.
- Blaise D, Jourdan E, Michallet M, et al. Mobilisation of healthy donors with lenograstim and transplantation of HLA-genoidentical blood progenitors in 54 patients with hematological malignancies: a pilot study. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 1153-8.
- Briones J, Urbano-Ispizua A, Orfao A, et al. Demonstration of donor origin of CD34 HLADR-bone marrow cells after allogeneic peripheral blood transplantation with a long follow up. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 189-94.
- Schmitz N, Bacigalupo A, Haencleaver D, et al. Allogeneic bone marrow transplantation vs filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation in patients with early leukemia: first results of a randomised multicentre trial of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 995-1003.
- Vigorito AC, Azevedo WM, Marques JFC, et al. A randomised prospective comparison of allogeneic bone marrow and peripheral blood progenitor cell transplantation in the treatment of hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 1145-51.
- Körbling M, Mirza N, Przepiorka D, Anderlini P, Chan KW, Champlin R. Clinical outcome in 112 patients following HLA-identical allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 1997, suppl 90: 224 a.
- Ottinger HD, Beelen DW, Scheulen UW, Grosse-Wilde H. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. *Blood* 1996; 88: 2775-9.
- Körbling M, Przepiorka D, Huh YO, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: Potential advantage of blood over marrow allografts. *Blood* 1995; 85: 1659-65.
- Milone JH, Bordone J, Etchegoyen O, Napal J, Prates MV, Morales VH. Trasplante de médula ósea en leucemia mieloide crónica. *Medicina (Buenos Aires)* 1999; 59: 1-10.
- Pan L, Delmonte J, Jalonen CK, Ferrara JLM. Pretreatment of donor mice with granulocyte colony stimulating factor polarizes donor T lymphocytes toward type-2 cytokine production and reduces severity of experimental GVHD. *Blood* 1995; 86: 4422-9.
- Pan L, Bressler S, Cooke KR, Krenker W, Karandikar M,

- Ferrara JLM. Long term engraftment, GVHD, and immunological reconstitution after experimental transplantation of allogeneic peripheral blood cells from G-CSF treated donors. *Biol Blood Marrow Transplant* 1996; 2: 126-32.
32. Mielkarek M, Martin PJ, Torok-Storb B. Suppression of alloantigen-induced T cell proliferation by CD14+ cells derived from granulocyte colony stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells. *Blood* 1997; 89: 1629-34.
 33. Licklite JD, De For T, Wagner J, et al. Matched-pair analysis of peripheral blood stem cells compared to marrow for allogeneic transplantation. *Blood* 1998; 92 (supp 1): 561 a.
 34. Campos A, Campilho F, Carvalhais A, et al. Peripheral blood stem cells versus bone marrow in allogeneic transplantation. A matched case control analysis. *Blood* 1998, 92 (supp 1): 4505 a.
 35. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, et al. Graft versus leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia. *Blood* 1995; 86: 2041-50.
 36. Slavin S, Naparstek E, Nagler A, et al. Allogeneic cell therapy for relapsed leukemia following bone marrow transplantation with donor lymphocytes. *Exp Dermatol* 1995; 23: 1553-9.
 37. Elmaglaaci A, Beelen D, Opalka B, Seeber S, Schaefer U. The risk of residual molecular and cytogenetic disease in patients with Philadelphia-chromosome positive first chronic phase chronic myelogenous leukemia is reduced after transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells compared with bone marrow. *Blood* 1999, 94: 384-9.
 38. Appelbaum F. Choosing the source of stem cells for allogeneic transplantation: no longer a peripheral issue. *Blood* 1999; 94: 381-3.
 39. Tricot G, Vesole DH, Jagannath S, et al. Graft versus myeloma effect: Proof of principle. *Blood* 1996; 87: 1196-8.
 40. Eibl B, Schwaighofer H, Nachbaur D, et al. Evidence of a graft-versus-tumor effect in a patient treated with marrow ablative chemotherapy and allogeneic bone marrow transplantation for breast cancer. *Blood* 1996; 88: 1501-8.
 41. Urbano Ispizua A, Rozman C, Martínez C, et al. Rapid engraftment without significant graft versus host disease after allogeneic transplantation of CD34+ selected cells from peripheral blood. *Blood* 1997; 89: 3967-73.
 42. Aversa F, Tabilio A, Velardi A, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched haplotype. *New Engl J Med* 1998; 339: 1186-93.
 43. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytorreduction for the treatment of malignant and non malignant hematological disease. *Blood* 1998; 91: 756-63.

Lo malo es que de esta evidencia [que hay una lengua actual, distinta de las pretéritas que constituyen el pasado de la lengua] se está pasando a algo que en modo alguno es evidente: la creencia que la lengua actual se reduce a la que hablan coloquialmente los que la tienen como propia, la que usan los locutores de radio y televisión, la que escriben los redactores de diarios y revistas. Todas las expresiones –vocablos o giros– que no son habitualmente usadas por las mayorías se reputan "anticuadas" y se relegan al pasado, destinadas tal vez a los diccionarios históricos. Esta tendencia me parece destructora, y amenaza con causar un empobrecimiento increíble de la lengua, hacerla retroceder a niveles de primitivismo que la dejen inservible para los menesteres superiores y para la plenitud personal de los que la hablan.

Julián Marías

El espesor del presente de la lengua. La Nación (Buenos Aires), 18-5-86 Sección 4ª, p1