

Artículo original

Trasplante alogénico de células hematopoyéticas de dos cordones umbilicales

Guillermo J. Ruiz Delgado,* Consuelo Mancías Guerra,* Martha L. González Carrillo,** Yunuén Ojeda López,** Eva Delia Calderón Garcidueñas,*** Antonio Marín López,*** Óscar González Llano,* David Gómez Almaguer,* Guillermo J. Ruiz Argüelles****

RESUMEN

Antecedentes: el trasplante de células hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical, sobre todo en adultos, está limitado por la baja cantidad de células disponibles. Para intentar resolver esto, se ha comenzado a hacer trasplantes de células hematopoyéticas provenientes de dos o más cordones umbilicales.

Objetivo: determinar la viabilidad del trasplante de células hematopoyéticas de cordón umbilical de dos donadores.

Pacientes y método: se trasplantaron células hematopoyéticas alogénicas compatibles de 10 diferentes cordones umbilicales a cinco pacientes, empleando el "método mexicano" de acondicionamiento no ablativo. La edad de los receptores osciló entre cinco y 40 años (mediana: 22). La cantidad de células CD34 de los dos cordones osciló entre 0.7 y 4.7×10^6 (mediana: 2.02×10^6) para cada paciente.

Resultados: el tiempo para lograr más de 500 neutrófilos absolutos tuvo una media de 24 días, en tanto que el tiempo para lograr más de 20×10^9 plaquetas por litro fue de 31 días. En cuatro pacientes no hubo toma de injerto y en dos se demostró quimerismo mixto de 40 y 70%. En ambos pacientes se injertó sólo uno de los dos cordones trasplantados. La supervivencia global a tres meses fue de 40% y la mediana de supervivencia, de 37 días.

Conclusión: es posible trasplantar con seguridad células de dos cordones umbilicales, aunque se requieren más estudios al respecto.

Palabras clave: células hematopoyéticas, mieloablación, trasplante alogénico.

ABSTRACT

Background: Umbilical cord blood cell transplantation is employed more frequently in the treatment of patients with hematologic malignancies. The number of hematopoietic cells in the cord limits its use and, as a result, stem cells from more than one cord are now being allografted.

Objective: To determine the viability of transplantation of hematopoietic cells from the umbilical cord of two donors.

Patients and method: We allografted five individuals, four of them with advanced hematologic diseases, with placental blood derived from two different cords in each case, using the "Mexican method" of non-ablative conditioning. Patient's age went from 5 to 40 years. A total of 0.7 to 4.7×10^6 (median 2.02×10^6) CD34 cells from the two cords were grafted to each patient.

Results: Median time to reach above the $0.5 \times 10^9/L$ granulocytes was 24 days, whereas median time to recover above $20 \times 10^9/L$ platelets was 31 days. In 4 patients the graft did not take and in two patients mixed chimerism (40 and 70%) was shown after the allograft. In both instances the adoptive hematopoiesis was derived from only one of the two allografted cords. Three patients died, one of them as a result of graft versus host disease. The global survival rate at three months was 40% and the median survival rate was 37 days. These are the first five patients allografted with two cords in México.

Key words: Hematopoietic cells, myeloablation, allograft.

* Servicio de Hematología.
Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL.

** Laboratorios Clínicos de Puebla.

*** Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea.

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

Recibido: abril, 2007. Aceptado: junio, 2007.

Correspondencia: Dr. Guillermo J. Ruiz Delgado, Servicio de hematología. Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL, avenida Madero y Gonzalitos s/n, colonia Mitras Centro, CP 64460, Monterrey, Nuevo León, México.
E-mail: gruz2@clinicaruiz.com

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

El trasplante de células totipotenciales hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical (TCHSCU) se emplea cada vez con mayor frecuencia. La relativa facilidad de conservación celular y el riesgo bajo de enfermedad grave de injerto contra huésped hacen que la sangre placentaria sea una fuente alternativa de células estaminales hematopoyéticas. Los regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida o no mieloablativos que permiten el TCHSCU es una alternativa benéfica para los pacientes que carecen de donador compatible.¹ Este tipo de trasplante es una alternativa aceptada para

adultos y niños. El TCHSCU no relacionado ofrece algunas ventajas, como la relativa facilidad de conservación y viabilidad de las células, la ausencia de riesgo para las madres y los donadores, el riesgo disminuido de transmisión de infecciones (particularmente citomegalovirus), riesgo reducido de enfermedad de injerto contra huésped, criterio menos estricto de selección para compatibilidad HLA donador-receptor y ausencia de desgaste del donador.

Existen bancos de células de cordón umbilical para llevar a cabo trasplantes en cordones relacionados y no relacionados (hay más de 220 mil unidades).^{1,2} El uso de regímenes de acondicionamiento mieloablativos, con sus respectivas toxicidades, el retraso en el prendimiento de todas las líneas celulares y la inclusión de pacientes de alto riesgo con enfermedades avanzadas obligan a tomar algunas precauciones al momento de realizar estos trasplantes. Los receptores adultos de cordones alogénicos se tratan exitosamente con una variedad de regímenes de acondicionamiento no mieloablativos de intensidad reducida. Al respecto, se ha sugerido que un régimen de acondicionamiento de intensidad reducida puede permitir el injerto de las células totipotenciales hematopoyéticas de cordón umbilical. Mientras que el número total de células mononucleares es limitado, el contenido de progenitores y el potencial proliferativo de las células de cordón umbilical son altos. El abordaje no mieloablativo podría disminuir algunos riesgos.¹

En México, la experiencia con estos trasplantes es limitada. El primero se realizó en 2002³ y se ha publicado poco al respecto.^{1,4,5} La experiencia publicada en México con el uso de esta técnica en dos cordones es nula. En este trabajo se informan los casos de cinco pacientes trasplantados con células de dos cordones umbilicales cada uno usando el "método mexicano" de condicionamiento no mieloablativo.⁶

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron en el estudio, de manera prospectiva, todos los pacientes trasplantados con células hematopoyéticas provenientes de dos cordones umbilicales en el Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla y en el Hospital Universitario de Nuevo León. Todos tenían una puntuación en la escala de Karnofsky de 100% al momento del trasplante y de todos ellos se

obtuvo consentimiento informado por escrito. Todos tenían neoplasias de mal pronóstico, multirrecidivas y sometidas a diversos tratamientos previos (cuadro 1). Estaban clasificados como de alto riesgo. Se empleó el "método mexicano" de acondicionamiento no ablativo para acondicionar a los receptores, consistente en la aplicación de busulfán oral (4 mg/kg los días -6 y -5), ciclofosfamida intravenosa (350 mg/m² los días -4, -3 y -2), fludarabina (30 mg/m² los días -4, -3 y -2), ciclosporina A oral (5 mg/kg desde el día -1 hasta el día +180) y metotrexato endovenoso (5 mg/m² los días +1, +3, +5 y +11).⁶

RESULTADOS

Se trasplantaron células hematopoyéticas alogénicas de 10 diferentes cordones umbilicales a cinco pacientes (cada quien recibió células provenientes de dos cordones). La compatibilidad entre ambos cordones entre sí y con el paciente fue de 4/6 en cuatro casos y de 5/6 en un caso (cuadro 1). Seis cordones fueron obtenidos del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, dos del Banco de Sangre de Cordón de Málaga, España, y dos del University of Colorado Cord Blood Bank. La edad de los receptores osciló entre cinco y 40 años (mediana: 22). La cantidad sumada de células CD34 de los dos cordones osciló entre 0.7 y 4.7 × 10⁶ (mediana: 2.02 × 10⁶) para cada paciente. El tiempo para lograr más de 500 neutrófilos absolutos tuvo una mediana de 24 días, en tanto que el tiempo para lograr más de 20 × 10⁹ plaquetas por litro fue de 31 días. En tres pacientes no hubo toma de injerto y en dos se demostró quimerismo mixto de 40 y 70%. En ambos pacientes se injertó sólo uno de los dos cordones. En el paciente número 2 se injertó el que tenía mayor número de células, en tanto que al paciente número 5 se injertó el que contenía menos. Tres pacientes fallecieron a los 30, 37 y 45 días postrasplante: uno por recuperación de la clonación leucémica, otro por hipoplasia prolongada irreversible y otro por enfermedad grave de injerto contra huésped. Dos pacientes están vivos a los 15 y 104 días postrasplante; uno de ellos, quimerizado parcialmente. La supervivencia global a 104 días fue de 40%, en tanto que la mediana de supervivencia global fue de 37 días. El cuadro 1 resume algunas características de estos pacientes.

Cuadro 1. Características de pacientes trasplantados y cordones umbilicales utilizados

<i>N edad</i>	<i>Diagnóstico</i>	<i>#</i>	<i>Origen</i>	<i>CD34</i>	<i>Estado</i>	<i>Tiempo</i>
1 5	Adrenoleucodistrofia	1, 5/6 2, 5/6	UCCBB UCBBB	0.23 1.79	V	104 días
2 24	Hodgkin multirrecaída	1, 4/6	CNTS	0.3	V, Quim.	15 días
	Multirrecaída	2, 4/6	CNTS	0.4		
3 40	LAL Ph1 (+) en	1, 4/6	CNTS	0.39	M	37 días
	1ª remisión	2, 4/6	CNTS	0.97		
4 22	LAM Flt-3 (+) en	1, 4/6	Málaga	1.3	M	45 días
	2ª remisión	2, 4/6	Málaga	3.4		
5 19	LGC Ph1 (+) en 2ª	1, 4/6	CNTS	1.74	M, Quim.	30 días
	Fase crónica	2, 4/6	CNTS	1.5		

N: número de paciente; edad en años; LAL: leucemia aguda linfoblástica; Ph1 (+): cromosoma Philadelphia; LAM: leucemia aguda mieloblástica; Flt-3 (+): mutación del gen de Flt-3 (fms-like tyrosine kinase 3); LGC: leucemia granulocítica crónica; #: número de cordón umbilical; CD34: número total de células CD34 trasplantadas de cada cordón; 5/6 y 4/6: grado de compatibilidad HLA (A, B y DR) de los cordones con el receptor; origen: banco fuente del cordón; UCCBB: University of Colorado Cord Blood Bank; CNTS: Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea de México; Málaga: Banco de Sangre de Cordón de Málaga, España; V: vivo; M: muerto; Quim.: quimerizado; tiempo: días después del trasplante.

DISCUSIÓN

Los trasplantes de células totipotenciales hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical (TCHSCU) son una opción terapéutica para pacientes con enfermedades hematológicas.⁷⁻¹¹ En comparación con los trasplantes de médula ósea de donador no relacionado, los TCHSCU tienen la ventaja de mayor disponibilidad¹² y bajo riesgo de enfermedad injerto contra huésped grave a pesar de la disparidad HLA entre donador y receptor.⁷⁻¹⁴ Sin embargo, estos trasplantes se han limitado en los adultos por la dosis de células del injerto.^{11,15} Por ejemplo, Laughlin y colaboradores encontraron que la cantidad de células nucleadas criopreservadas es un determinante decisivo para la recuperación de neutrófilos y que la dosis de células CD34+ está asociada con la mejoría en la supervivencia de adultos receptores.¹⁵ Wagner y colaboradores observaron que los receptores de TCHSCU con cantidades menores a 1.8×10^7 células nucleadas o menores a 1.7×10^5 células CD34 por kilogramo de peso tienen una supervivencia disminuida y menor posibilidad de lograr la toma del injerto.¹¹

En 1969, Mathé y colaboradores reportaron el caso de un paciente que recibió un trasplante combinado de médula ósea de diferentes donadores, como un método para aumentar la dosis celular del trasplante,

con resultados poco alentadores.¹⁶ Desde entonces ha habido un interés creciente en aumentar la cantidad de células trasplantadas.^{17,18} Zanjani y colaboradores hicieron investigaciones con el trasplante de células de cordón umbilical de múltiples donadores en un modelo bovino¹⁷ y encontraron un incremento a corto plazo de la posibilidad de lograr el injerto, aunque la hematopoyesis a largo plazo se estableció con un solo donador. Por otro lado, Chen y su equipo demostraron que la combinación de progenitores hematopoyéticos de dos donadores de médula ósea murinos distintos y HLA incompatibles, depletados de células T, beneficia el injerto mieloide en receptores murinos.¹⁹ Kim y colaboradores¹⁸ ensayaron el trasplante de dos unidades de cordón umbilical en ratones inmunodeficientes y encontraron que una unidad predominó usando injertos no fraccionados, mientras que la depleción de las células no comprometidas resultó en un injerto de doble unidad más prolongado. Estos datos sugieren que la reacción de injerto contra huésped ocasionó la predominancia de un donador.

En humanos, se han publicado informes de casos de pacientes que recibieron células de cordón umbilical de hasta 12 unidades distintas.²⁰⁻²³ En casi todos estos estudios se verifica que, finalmente, sólo se injertan en el receptor las células provenientes de uno de los cordones trasplantados. El estudio de Weinreb

y colaboradores²² sugiere que, de varias unidades trasplantadas, predomina la más compatible en antígenos HLA, al menos por un corto periodo.²³ En fecha reciente, De Lima y su equipo informaron de un injerto exitoso con dos donadores en un trasplante de unidad doble en un paciente con leucemia grave en estado avanzado.²³ Barker y su equipo demostraron la seguridad de los TCHSCU usando esquemas mieloablativos para trasplantar dos unidades de cordón umbilical compatibles entre sí y con el receptor, usando una mediana de 3.5×10^7 células nucleadas infundidas por kilogramo de peso (rango 1.1-6.3).²⁴ A los 21 pacientes se les injertó con una mediana de 23 días postrasplante. Es interesante que el día 21 del injerto mostraban hematopoyesis derivada de ambas unidades en 24% de los casos y de un solo cordón en 76%, con predominio de una de las unidades en el día 100 postrasplante. En este estudio,²⁴ Barker y colaboradores encontraron que el número de células CD3+ era mayor en la unidad predominante y no encontraron relación con el número de células CD34+ de cada cordón ni con el grado de compatibilidad HLA.

Hasta hoy se desconoce si el trasplante de dos unidades de cordón umbilical incrementa la posibilidad de toma de injerto, comparado con el trasplante de una unidad; algunos estudios apoyan esta aseveración. Según nuestra experiencia, los resultados de toma de injerto y de desarrollo de quimerismo no son distintos de los obtenidos trasplantando células hematopoyéticas provenientes de cordón umbilical único.¹ Sin embargo, otros estudios informan que el uso de más de un cordón umbilical está relacionado con una mayor posibilidad de toma de injerto.²⁴⁻²⁷ En la Universidad de Minnesota, antes de los TCHSCU de dos unidades, sólo 30% de los pacientes referidos a dicho centro eran candidatos a este tipo de trasplante, porque contaban con una sola unidad de cordón umbilical con una dosis celular adecuada. De los pacientes sometidos a trasplante de una sola unidad, 72% se injertaron con una mediana de 34 días (rango 17-54) si la dosis de células infundidas era menor a 1.7×10^5 células CD34 por kilogramo de peso.¹¹ En contraste, fue posible hacer un injerto con dos unidades en la mayoría de los pacientes, lo que se relacionó con el éxito del injerto en todos los casos, a pesar de la cantidad baja de células CD34+ infundidas (mediana: $1.5 \times$

105/kg) en la unidad que finalmente se usó. Hay datos que indican que la unidad no injertada puede facilitar el injerto de la unidad predominante por mecanismos inmunológicos. Se han hecho también de manera exitosa trasplantes de dos cordones usando esquemas de acondicionamiento no ablativo.²⁸

Por nuestra experiencia con cinco pacientes mexicanos trasplantados con células hematopoyéticas provenientes de dos cordones umbilicales, podemos afirmar que se pueden llevar a cabo con seguridad estos trasplantes usando el esquema de acondicionamiento no ablativo.²⁹ Los TCHSCU de doble unidad abren un camino de esperanza para muchos pacientes descartados de la opción del trasplante por la escasa cantidad de células de una sola unidad. La toma de injerto y la baja incidencia de enfermedad de injerto contra huésped grave y crónica favorecen una menor mortalidad relacionada con el trasplante. Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar el efecto a largo plazo de los TCHSCU de unidad doble.

REFERENCIAS

1. Mancías-Guerra C, Ruiz-Delgado GJ, Manzano C, Díaz-Hernández MA, et al. Umbilical cord blood transplantation using non-myeloablative conditioning: The Mexican experience. *Hematology* 2006;11:355-9.
2. Chen BJ, Cui X, Sempowski GD, Domen J, Chao NJ. Hematopoietic stem cell dose correlates with the speed of immune reconstitution after stem cell transplantation. *Blood* 2004;103:4344-52.
3. González-Llano O, Cárdenas-Serna JM, Rangel-Fuentes M, Mancías-Guerra C, y col. El trasplante de precursores hematopoyéticos de la sangre del cordón umbilical en un niño con leucemia linfoblástica. *Medicina Univ* 2002;4:181-4.
4. Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Rangel D, Sánchez-Anzaldo J, Ruiz-Argüelles A, y col. Trasplante de células de cordón umbilical: informe de dos casos. *Medicina Univ* 2002;4:233-5.
5. Ruiz-Argüelles GJ, Reyes-Núñez V, Garcés-Eisele J, Warwick RM, et al. Acquired hemoglobin S trait in an adult patient with secondary acute myelogenous leukemia allografted with matched unrelated umbilical cord blood cells using a non-ablative conditioning regimen. *Haema* 2005;8:492-6.
6. Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D, Morales-Toquero A, Gutiérrez-Aguirre CH, et al. (Latin American Cooperative Oncohematology Group). The early referral for reduced-intensity stem cell transplantation in patients with Ph1 (+) chronic myelogenous leukemia in chronic phase in the imatinib era: results of the Latin American Cooperative Oncohematology Group (LACOHG) prospective, multicenter study. *Bone Marrow Transplant* 2005;36:1043-7.
7. Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, Smith C, et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplanta-

- tion into unrelated recipients. *N Engl J Med* 1996;335:157-66.
8. Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *N Engl J Med* 1997;337:373-81.
 9. Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, Kurtzberg J, et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 1998;339:1565-77.
 10. Rubinstein P, Stevens CE. Placental blood for bone marrow replacement: the New York Blood Center's program and clinical results. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2000;13:565-84.
 11. Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, Baker S, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 2002;100:1611-8.
 12. Barker JN, Krepski TP, DeFor TE, Davies SM, et al. Searching for unrelated donor hematopoietic stem cells: availability and speed of umbilical cord blood versus bone marrow. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002;8:257-60.
 13. Rocha V, Cornish J, Sievers EL, Filipovich, et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood* 2001;97:2962-71.
 14. Barker JN, Davies SM, DeFor T, Ramsay NK, et al. Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood* 2001;97:2957-61.
 15. Laughlin MJ, Barker J, Bambach B, Koc ON, et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med* 2001;344:1815-22.
 16. Mathe G, Amiel JL, Schwarzenberg L, Schneider M, et al. Bone marrow transplantation in man. *Transplant Proc* 1969;1(1):16-24.
 17. Zanjani E, Almeida-Porada G, Hangoc G, Broxmeyer HE. Enhanced short term engraftment of human cells in sheep transplanted with multiple cord bloods: implications for transplantation of adults. *Blood* 2000;96:552a.
 18. Kim DW, Chung YJ, Kim TG, Kim YL, Oh IH. Cotransplantation of third-party-mesenchymal stromal cells can alleviate single-donor predominance and increase engraftment from double cord transplantation. *Blood* 2004;103:1941-8.
 19. Chen BJ, Cui X, Chao NJ. Addition of a second, different allogeneic graft accelerates white cell and platelet engraftment after T-cell-depleted bone marrow transplantation. *Blood* 2002;99:2235-40.
 20. Ende M, Ende N. Hematopoietic transplantation by means of fetal (cord) blood. *Virginia Med J* 1972;99:276-80.
 21. Shen BJ, Hou HS, Zhang HQ, Sui XW. Unrelated, HLA-mismatched multiple human umbilical cord blood transfusion in four cases with advanced solid tumors: initial studies. *Blood Cells* 1994;20:285-92.
 22. Weinreb S, Delgado J, Clavijo O, Yunis EJ, et al. Transplantation of unrelated cord blood cells. *Bone Marrow Transplantation* 1998;22:193-6.
 23. De Lima M, St John LS, Wieder ED. Double-chimaerism after transplantation of two human leucocyte antigen mismatched, unrelated cord blood units. *Br J Haematol* 2002;119:773-6.
 24. Barker DJ, Weisdorf TE, DeFor BR, Blazar PB, et al. Transplantation of two partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 2004 (first edition paper, prepublished online October 5; DOI 10.1182/blood-2004-07-2717).
 25. Cornetta K, Laughlin M, Carter S. Umbilical cord blood transplantation in adults: results of a prospective, multi-institutional, NHBLSI sponsored trial. *Blood* 2002;100:42a.
 26. Rocha V, Labopin M, Frassoni F. Results of unrelated cord blood versus unrelated bone marrow transplant in adults with acute leukemia. A matched pair analysis. *Blood* 2002;100:42a.
 27. Laughlin M, Rubinstein P, Stevens C. Comparison of unrelated cord blood and unrelated bone marrow transplants for leukemia in adults: a collaborative study of the International Bone Marrow Transplant Registry and the New York Blood Center. *Blood* 2003;102:244a.
 28. Balen KK, Spitzer TR, Yeap BY, McAfee S, et al. Double unrelated reduced-intensity umbilical cord blood transplantation in adults. *Biol Blood Marrow Transp* 2007;13:82-89.
 29. Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D, Ruiz-Delgado GJ, Tarín-Arzaga LC. Ocho años de experiencia con el "método mexicano" para hacer trasplantes de células hematopoyéticas alogénicas. *Gac Med Mex* 2007;143:231-5.