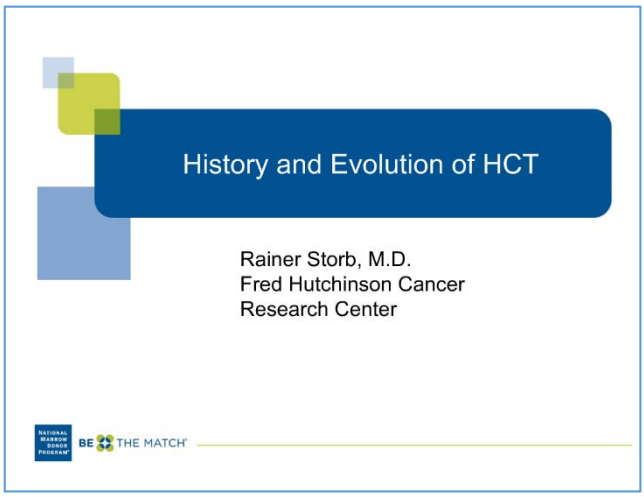
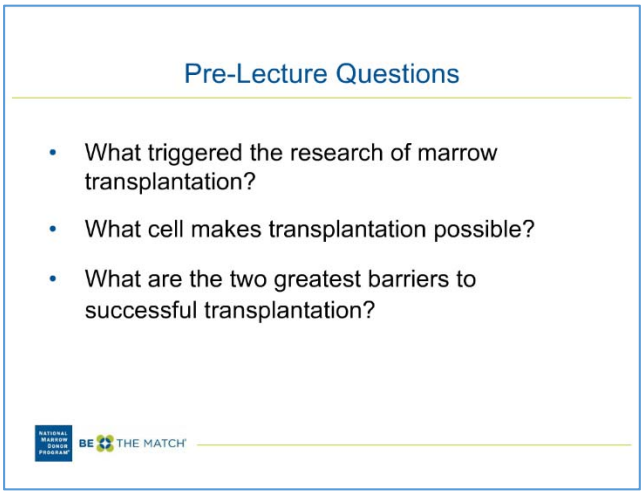
History and Evolution of HCT

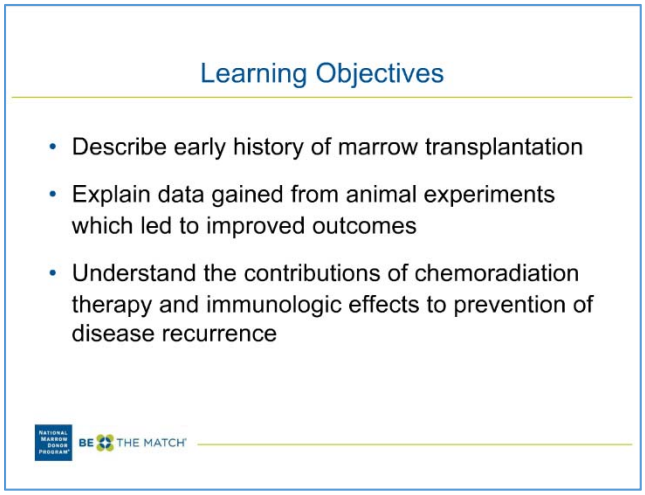
Diapositiva 1
RAINER STORB, M.D.: Soy Rainer Storb del Fred Hutchinson Cancer Research Center en Seattle, y hablaré sobre la historia y la evolución del trasplante de células hematopoyéticas.



Diapositiva 2
Responderé a algunas preguntas previas a la conferencia que se muestran en esta diapositiva...

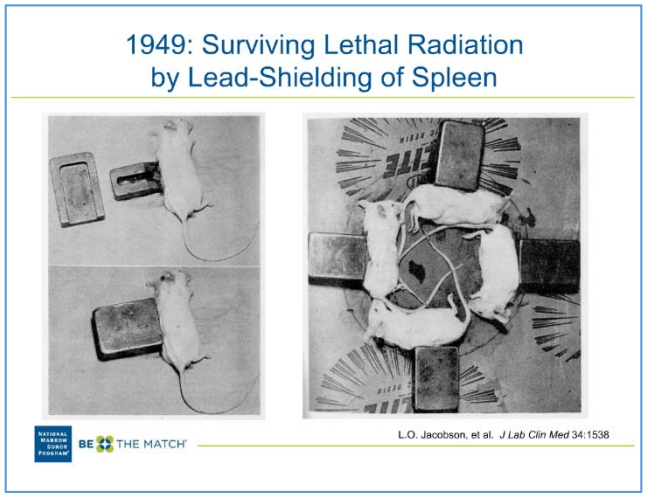


Diapositiva 3
.... y en la próxima diapositiva se muestran los objetivos de aprendizaje.

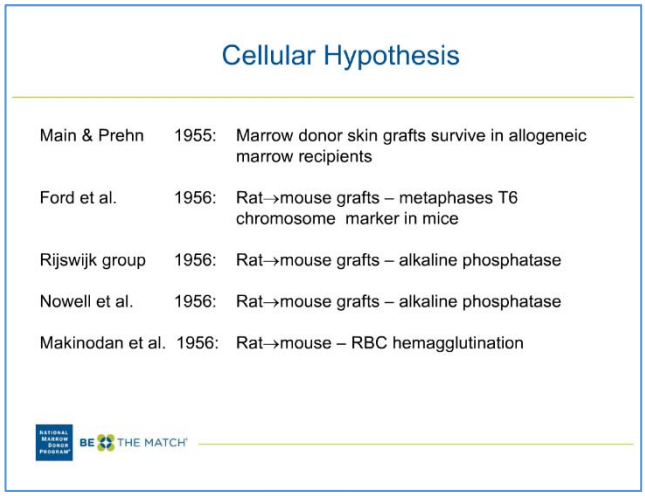


Diapositiva 4
El interés en el trasplante de médula ósea comenzó a raíz de las explosiones de la bomba atómica en 1945 con las cuales se vio que la médula ósea era especialmente sensible a la irradiación y por supuesto a las fuerzas armadas les interesaba mucho averiguar si había algo que se pudiera hacer para proteger la médula ósea o rescatar la médula ósea del daño causado por la irradiación. Así que unos pocos investigadores en los Estados Unidos y después en Europa comenzaron a trabajar en este problema.

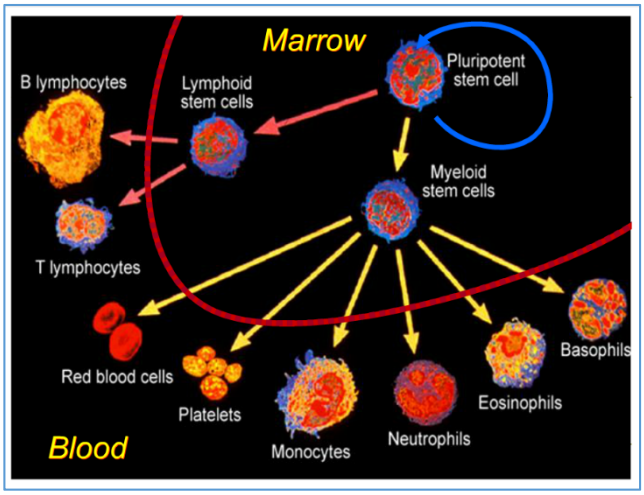
Diapositiva 5
En 1945, Leon Jacobson de la Universidad de Chicago publicó un artículo donde mostraba que podía proteger a los ratones contra el daño ocasionado por irradiación de un nivel letal escudando los bazos tal como se muestra en esta diapositiva. Lo interesante es que Jacobson propuso que esta protección probablemente se debiera a un factor humoral. En el transcurso de los siguientes cinco, seis o siete años, el asunto fue y vino entre la protección humoral y la protección celular.



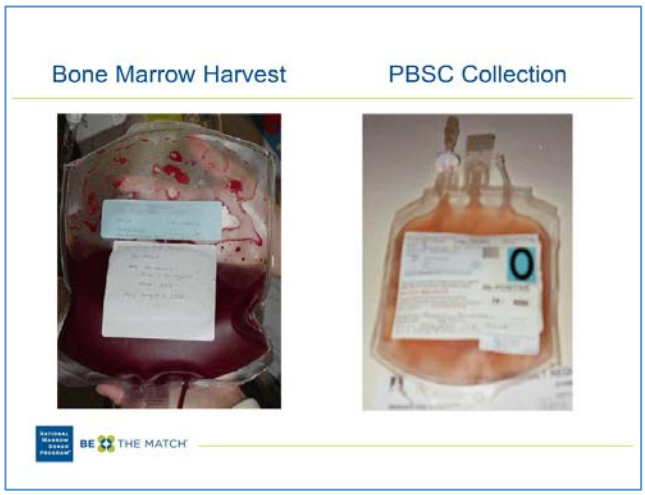
Diapositiva 6
En 1955 y 1956 se publicaron cinco artículos de grupos de Europa y los Estados Unidos, donde se demostraba inequívocamente que la protección contra la radiación lograda mediante una infusión de médula ósea o células esplénicas en ratones o ratas se debía a células que se trasplantaban con estos preparados. Esto se documentó usando marcadores genéticos sanguíneos, lo que demostró sin lugar a dudas que la repoblación en su totalidad se derivaba de células donadas.



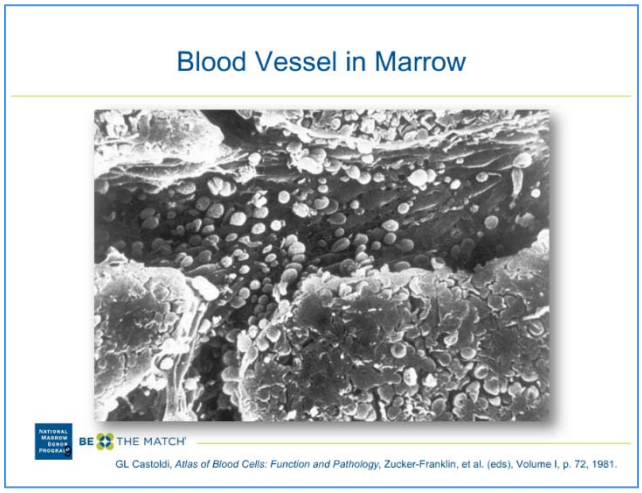
Diapositiva 7
Estos descubrimientos derivaron en la noción de que el trasplante era posible debido a la existencia en la médula ósea de una célula troncal, una célula pluripotente, que tenía dos cualidades. Una de ellas era que podía autorrenovarse y la otra que podía diferenciarse o producir células que efectivamente se diferenciaban en los distintos linajes celulares que finalmente salían de la médula ósea para ir a la sangre y convertirse en plaquetas, neutrófilos, eritrocitos, linfocitos, etcétera.



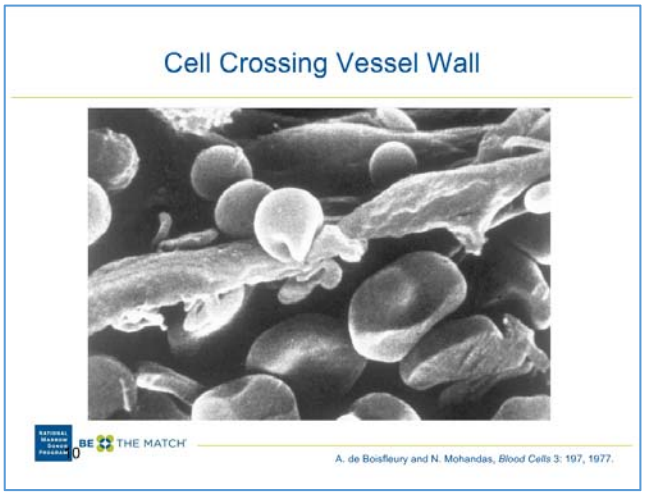
Diapositiva 8
El trasplante de médula ósea de hecho se hace sin intervención de un cirujano. La médula ósea para el trasplante se extrae de la cresta ilíaca posterior. La mayor parte de lo que se aspira, de hecho, es sangre. Luego se coloca en una bolsa para administrar sangre, como se muestra a la izquierda de la diapositiva y, desde hace unos 20 años, esto ha sido reemplazado en parte por células madres de sangre periférica que se obtienen movilizando las células madres de la médula ósea a la sangre usando un factor de crecimiento, y después se las extrae a lo largo de un período de dos horas, y se ponen en una bolsa de extracción de sangre, como se ve a la derecha de la diapositiva. Finalmente estas células se infunden al receptor de la médula ósea mediante infusión intravenosa.



Diapositiva 9
Las células entonces circulan por el torrente sanguíneo y en su camino llegan a los vasos sanguíneos de la médula ósea y aquí se observa uno de esos vasos en el medio de esta electromicrografía, y las áreas más compactas en la imagen representan la médula ósea.

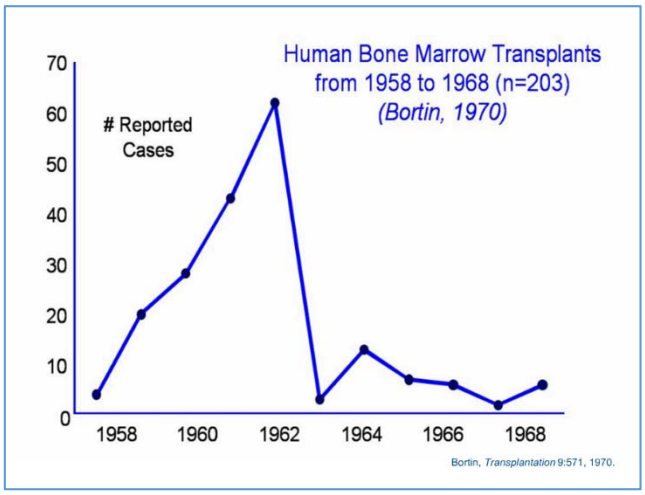


Diapositiva 10
Las células madres reconocen moléculas de adhesión en la superficie de estos vasos sanguíneos y se adhieren a ellos y entonces comienzan a arrastrarse a través de la pared del vaso como se aprecia en el centro de esta imagen. Entonces ingresan en la médula ósea y encuentran sus nichos donde se encajan y eventualmente comienzan a prosperar y hacer lo que se supone que deben hacer, que es producir más de sí mismas y también producir células progenitoras diferenciadas específicas, que finalmente permiten la repoblación de la médula ósea.



Diapositiva 11
Ahora bien, el principio de la obtención de injertos de médula al que se arribó en la década de 1950 era tratar a un paciente dado con dosis elevadas de quimioterapia o bien radioterapia con el objeto de destruir la médula ósea enferma, ya fuera de leucemia o talasemia u otra enfermedad cancerosa, y suprimir a la vez las células inmunitarias del paciente para que el injerto de médula del donante pudiera ser aceptado. La idea era que el injerto de médula ósea sana reemplazara la médula ósea enferma. Esto, por supuesto era un principio prometedor que muchos oncólogos y hematólogos del mundo entero pusieron en práctica.

Diapositiva 12
En 1970, el ya fallecido Mortimer Bortin resumió los casos publicados de trasplantes de médula ósea y estoy seguro de que esto es solo una muestra. Hay muchísimos casos no publicados, que jamás llegaron a la literatura médica. Y pueden ver aquí que había mucho entusiasmo, que el número de casos llegó al máximo alrededor de 1961 y luego descendió precipitadamente a niveles sumamente bajos y finalmente desaparecieron hacia 1968. Ahora, ¿cuáles fueron las razones para esta falta de interés repentina en los trasplantes de médula ósea?



Diapositiva 13
Las razones se muestran en esta diapositiva, también del mismo artículo de 1970, en el que se informa de un total de 200 casos, 73 con anemia aplásica, 150 con cánceres hematológicos y 12 con enfermedades de inmunodeficiencia, y es obvio que la causa predominante del fracaso era el rechazo del trasplante. Entre los pacientes en quienes el injerto no prendió, literalmente todos ellos murieron de lo que se llama enfermedad del injerto contra el huésped, que es una reacción inmunitaria de las células donadas contra los tejidos del receptor, específicamente la piel, el intestino y el hígado, y otros pacientes murieron de infección, de modo que finalmente ninguno de los pacientes sobrevivió.

Human Marrow Grafts 1958-67

Diseases	# Patients			
	Total	Graft Failure	GVHD	Alive
Aplastic anemia	73	66	5	0
Hematologic malignancies	115	56	33	0
Immunodeficiencies	12	3	9	0
Total	200	125	47	0

BE THE MATCH

Bortin, *Transplantation* 9: 571, 1970

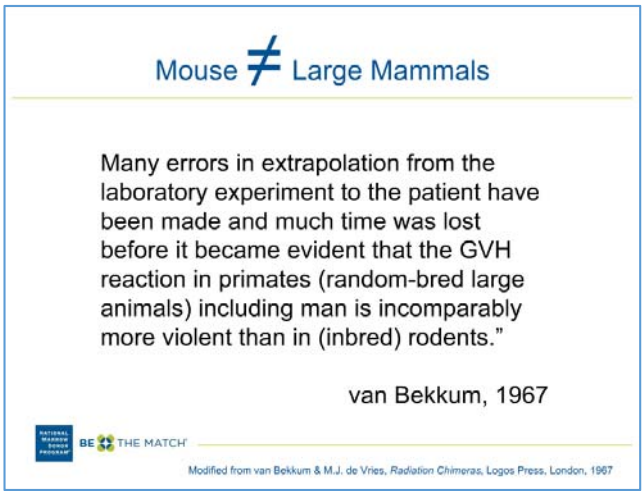
Diapositiva 14
En esta fotografía de una reunión de la Sociedad del Trasplante de 1968, las figuras predominantes en ese campo evaluaron la situación. De izquierda a derecha se puede ver a George Mathe de París quien, junto con Don Thomas, que es el tercero de la derecha, fue el primero en realizar un trasplante humano en 1957. Junto a Mathe está Dirk van Bekkum de Holanda, y a su lado, George Santos de Johns Hopkins y Don Thomas, luego Charlie Congdon de Oak Ridge National Laboratories y Delta Uphoff de los Institutos Nacionales de Salud, y las conclusiones a las que llegaron tras su evaluación sonaban bastante derrotistas y como vemos…

Transplantation Society Meeting
New York, 1968

L to R: George Mathe, Dirk van Bekkum, George Santos, Don Thomas, Charles Congdon, Delta Uphoff

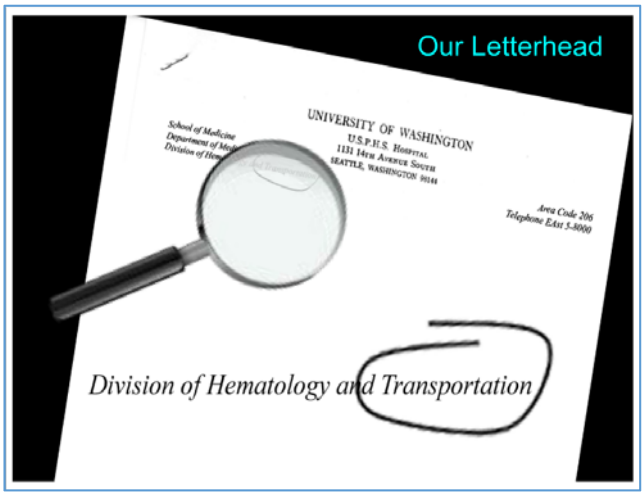
BE THE MATCH

Diapositiva 15
... que se resume aquí en esta declaración en particular de Dirk van Bekkum de su clásico libro *Quimeras por radiación* donde simplemente dijo que los ratones no son como los grandes mamíferos, que incluyen a los humanos, los perros y los primates. Lo que realmente sucedió fue que las reacciones del injerto contra el huésped en estas especies de mamíferos grandes eran mucho mucho más graves que las que se habían visto en roedores endocriados. De modo que básicamente volvieron a foja cero.

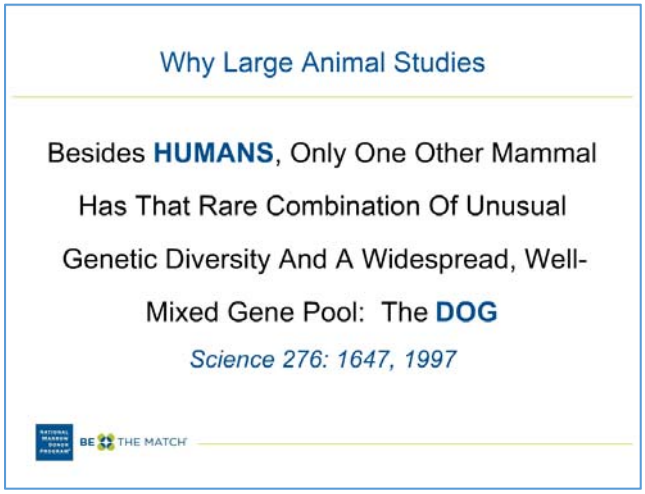


Diapositiva 16
En 1965 fui a Seattle a reunirme con el pequeño grupo de investigación de Don Thomas. Yo era investigador posdoctoral, al igual que Dean Buckner a la derecha, y Bob Epstein era el instructor de radiación, y a la izquierda se puede ver a Don Thomas. Era un equipo muy pequeño con un técnico, dos técnicos en animales y un secretario, y elegimos trabajar...

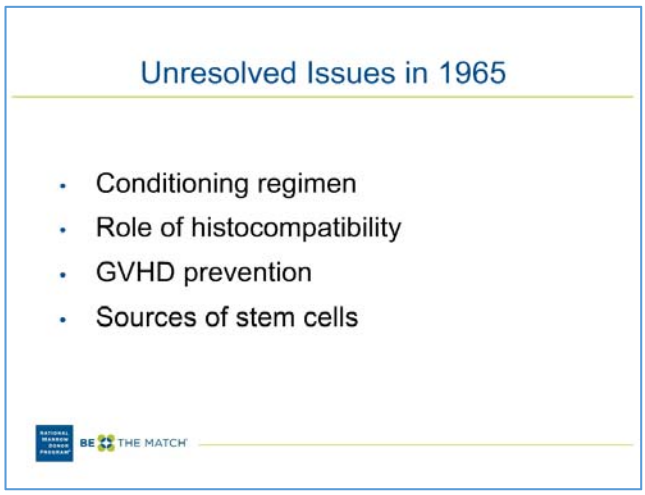
Diapositiva 17
Dicho sea de paso, también debo decir en esta diapositiva en particular que el concepto de trasplante no era muy conocido en esa época. Aquí se ve nuestro membrete que había generado la imprenta de la Universidad de Washington. Nos llamábamos División de Hematología y Transporte. Se suponía que era trasplante pero, una vez más, el concepto de trasplante realmente no se conocía muy bien en esa época. Teníamos muchas de estas hojas membretadas en los armarios y las usábamos para escribir los manuscritos.



Diapositiva 18
¿Por qué estudios en animales grandes? Elegimos para nuestras pruebas en animales al perro porque, además de los humanos, es la única especie que tiene esta rara combinación de diversidad genética inusual y un acervo genético muy mezclado y ampliamente distribuido. Además, el perro comparte con los humanos muchas enfermedades espontáneas y una de las enfermedades en que nos concentramos fue el linfoma no hodgkiniano. Otras enfermedades incluyeron las hemoglobinopatías.



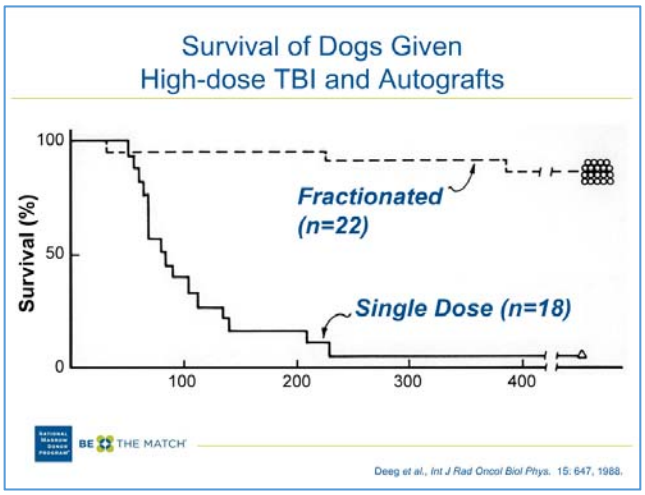
Diapositiva 19
En esta diapositiva se muestran los problemas no resueltos en 1965. En primer lugar, mencioné antes la incidencia increíblemente elevada de fracasos del injerto. Era necesario definir los regímenes de acondicionamiento. En segundo lugar, en 1965, el término “antígeno leucocitario humano” o HLA ni siquiera se había acuñado. A lo sumo sabíamos de H2, y eso era todo. Así que todavía había que establecer el papel de la histocompatibilidad, especialmente de la tipificación para histocompatibilidad. No se sabía cómo prevenir la enfermedad del injerto contra el huésped. Y finalmente, todavía no se había definido cuál era la fuente de las células madres.



Diapositiva 20
Primero nos concentramos en la irradiación corporal total y en la parte izquierda de esta diapositiva vemos las fuentes opositoras de cobalto 60 con un aspecto bastante primitivo, que usamos durante toda la década de 1960 hasta incluso en la década de 2000. Las dos fuentes se enfrentan una a la otra y de hecho le daban una irradiación muy homogénea al todo el cuerpo del paciente, quien estaba colocado en la camilla entre las fuentes. Hoy en día, por supuesto, estas fuentes primitivas han sido reemplazadas por aceleradores de partículas lineales de muy alto voltaje. La desventaja es que hay que girar a los pacientes para las irradiaciones. Así que todavía extraño un poco las viejas fuentes de cobalto 60.

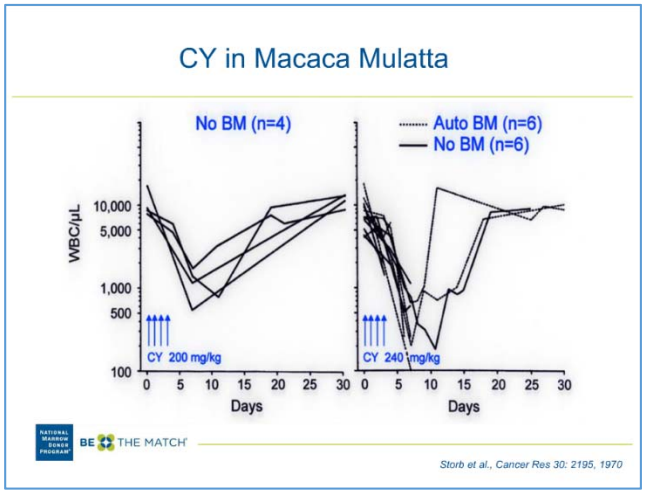
Diapositiva 21

De modo que gran parte de nuestro trabajo inicial se concentraba en encontrar cuáles eran las condiciones ideales bajo las cuales se administraba la irradiación corporal total. Una de las cosas que hicimos fue analizar y comparar la irradiación en una única dosis con la irradiación en dosis fraccionadas. En lo referente a las toxicidades inmediatas, y también las toxicidades medulares, los dos modos de irradiación eran en realidad muy similares. Pero para nuestra sorpresa, al conservar perros que habían sobrevivido a las dosis más altas de irradiación corporal total mediante un autoinjerto de rescate, al pasar el tiempo, notábamos que los perros irradiados con una única dosis gradualmente morían de toxicidades en órganos lentos en responder, como el intestino, el hígado y el pulmón, mientras que los perros que recibían dosis fraccionadas sobrevivían casi todos. Entonces esto dio origen en la década de 1970 a un cambio en la irradiación en una única dosis a irradiación en dosis fraccionadas.



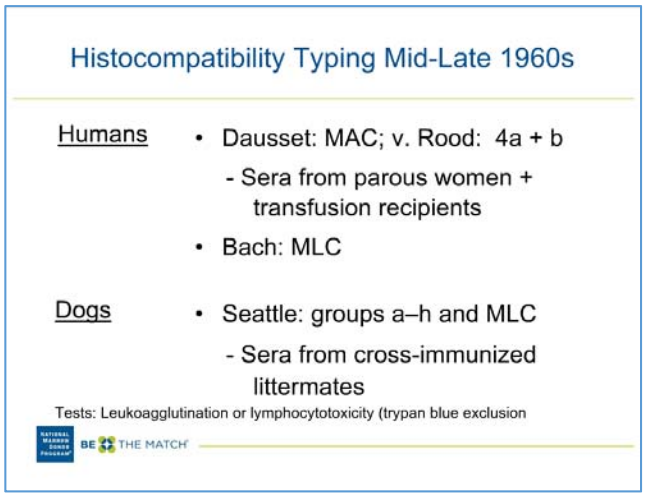
Diapositiva 22

Otra área fue explorar quimioterápicos para los regímenes de acondicionamiento, y exploramos la ciclofosfamida alentados por George Santos de Johns Hopkins. Primero, hicimos estudios en perros que mostraron que, a muy altas dosis de ciclofosfamida, los injertos alogénicos eran muy factibles, si bien es interesante notar que los animales que sobrevivían generalmente continuaban siendo quimeras mixtas con una persistencia de células del huésped de por vida. Después, exploramos la ciclofosfamida en monos rhesus, *Macaca mulatta*, como se ve en esta diapositiva, y descubrimos dos cosas interesantes. Una fue que a dosis muy altas, como se ve a la derecha en la diapositiva, concretamente de 60 mg/kg, 4 veces, o una dosis total de 240 mg/kg, los monos generalmente morían independientemente de si recibían un rescate de médula ósea autóloga o no, y morían no de fracaso de la médula ósea, sino de insuficiencia cardíaca. Así que, claramente, la dosis de 240 mg/kg era demasiado alta. Cuando bajamos la dosis a 50 mg/kg, 4 veces, a un total de 200 mg/kg y encontramos que era sumamente bien tolerada. Al final, el animal no moría de fracaso de la médula ósea, así que no era una dosis tóxica para la médula ósea, o dosis mieloablativa, y después en otros estudios documentamos que de hecho se podía lograr que los injertos alogénicos prosperaran. Y entonces 50 mg de ciclofosfamida por kilogramo continúa siendo la dosis estable de fármaco desde 1970 para tratar la anemia aplásica. Mostraré eso en un momento.



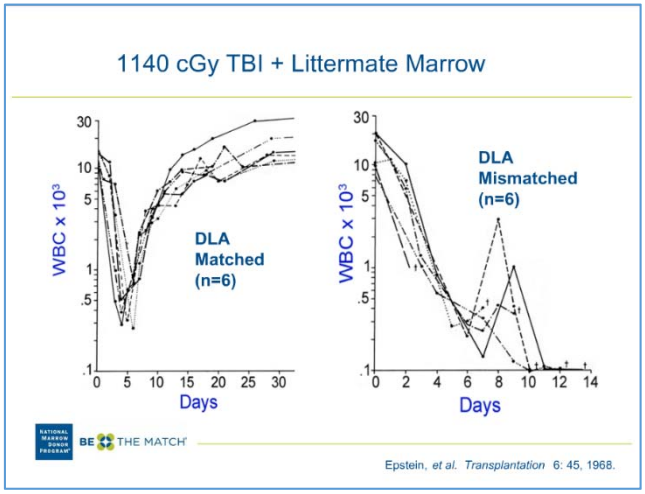
Diapositiva 23

La otra área era la tipificación de histocompatibilidad en humanos. El ya fallecido Jean Dausset, que recibió el Premio Nobel por su trabajo, ha descrito el complejo de ataque a la membrana que ahora sabemos que es el sistema HLA-A, mientras que Jon van Rood de Holanda describió el sistema 4a + b, que creo que ahora es el sistema HLA-B. Lo logró cribando sueros de mujeres madres y también de receptores de transfusiones: un enorme trabajo. Y luego, a finales de los ‘60, Fritz Bach y Bernie Amos documentaron que una reacción por cultivo mixto de leucocitos era otra manera de encontrar donantes compatibles para los receptores de trasplantes. Y, de manera similar, desarrollamos en Seattle grupos caninos, o de perros, para tipificación de histocompatibilidad así como cultivos mixtos de leucocitos. Estas eran tecnologías de tipificación muy, muy primitivas que, por supuesto, ahora han sido todas reemplazadas por técnicas moleculares. Pero en ese momento, nadie sabía si la tipificación para estos antígenos extraños tenía algún valor pronóstico para el resultado de los trasplantes.

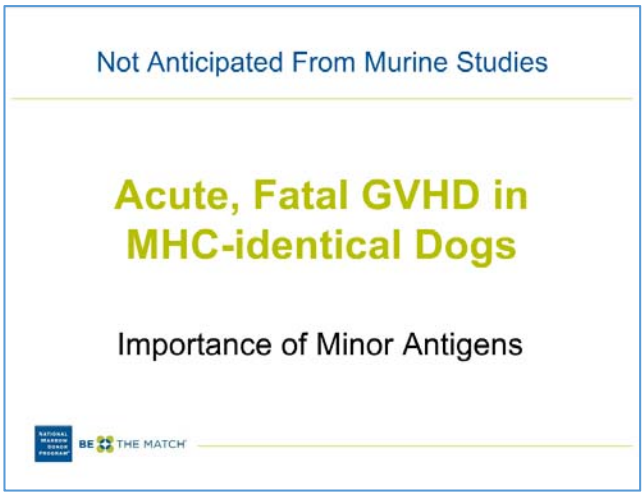


Diapositiva 24

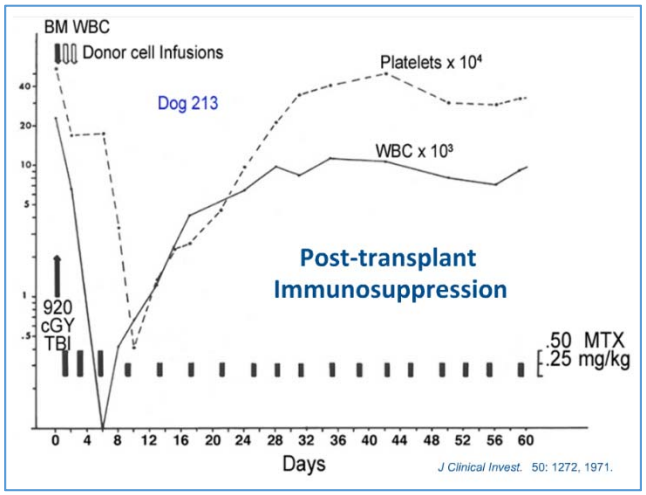
A fines de 1967, hicimos un experimento con 12 pares de perros donantes y receptores, hermanos de camada, que habían recibido un injerto de médula ósea. A seis de ellos los llamamos compatibles para estas reacciones antiséricas más bien poco refinadas, y a seis los llamamos no compatibles en virtud de los resultados de las pruebas. Y entonces hicimos los experimentos, los animales fueron codificados, solo el secretario sabía cuál era cuál. Fueron todos irradiados el mismo día, trasplantados el mismo día, y entonces observamos qué sucedía. Y como se evidencia en esta diapositiva a la izquierda, están los cambios en los glóbulos blancos de los perros que eran compatibles, y se puede ver que todos los injertos prendieron. Todos sobrevivieron hasta el día 30 sin ningún problema, mientras que a la derecha, los perros que eran incompatibles, no sabemos hasta hoy si eran incompatibles con respecto a un haplotipo o dos haplotipos debido a que, dado lo poco refinado de las reacciones antiséricas, no podíamos decirlo. Pero igualmente en parte mostraron indicios de que el injerto había prendido, pero finalmente todos rechazaron el injerto y murieron de hipoplasia medular profunda. Y así supimos que tipificar por el que ahora se sabe que es el complejo de histocompatibilidad mayor era sumamente importante para el resultado del trasplante. Sin embargo, cuando observamos a los perros de la izquierda por más tiempo, los perros con antígeno leucocitario compatible, notamos que también comenzaron a morir de lo que ahora sabemos que eran reacciones del injerto contra el huésped de modo que, para el día 100, creo que solo uno de los perros vivía que tenía enfermedad del injerto contra el huésped crónica. Así que aprendimos dos cosas. Una fue que la compatibilidad para el complejo de histocompatibilidad mayor era sumamente importante, pero la otra fue que estábamos viendo reacciones a antígenos de histocompatibilidad que no eran mayores, que también podían causar la muerte.



Diapositiva 25
Esto básicamente no lo habíamos anticipado con los estudios murinos, esta enfermedad del injerto contra el huésped mortal aguda en la cual los perros idénticos, destaca la importancia de lo que llamamos antígenos menores. Así que volvimos otra vez a empezar de cero y a intentar dilucidar cómo prevenir eso.

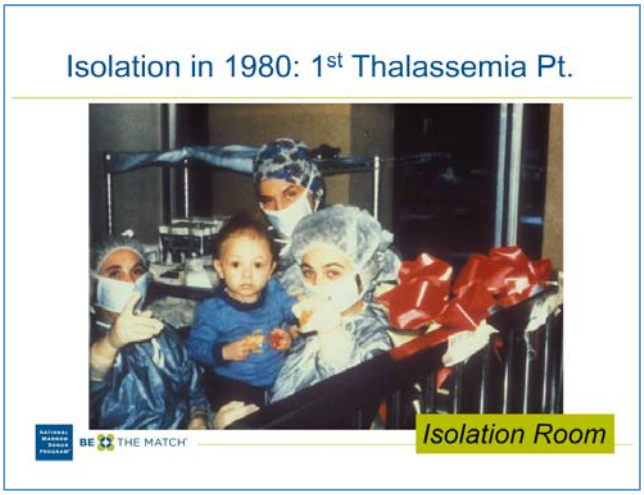


Diapositiva 26
Entonces exploramos un montón de inmunosupresores, literalmente la mayoría de los cuales no funcionó excepto uno, y este fue un fármaco llamado metotrexato, un antagonista del folato que cuando se administraba después de una dosis alta de irradiación corporal total y el trasplante, como se muestra en esta diapositiva, resultó ser de hecho bastante tóxico para el tubo digestivo y esto nos forzó a separar la dosis de metotrexato como se ve en estas diapositivas hasta el régimen que todavía se usa hasta hoy de los días 1, 3, 6 y 11, y en este experimento en particular en realidad se administró una vez por semana durante los primeros 60 días. Al hacerlo, pudimos atenuar las reacciones del injerto contra el huésped y hacer que la mayoría de estos animales sobreviviera.

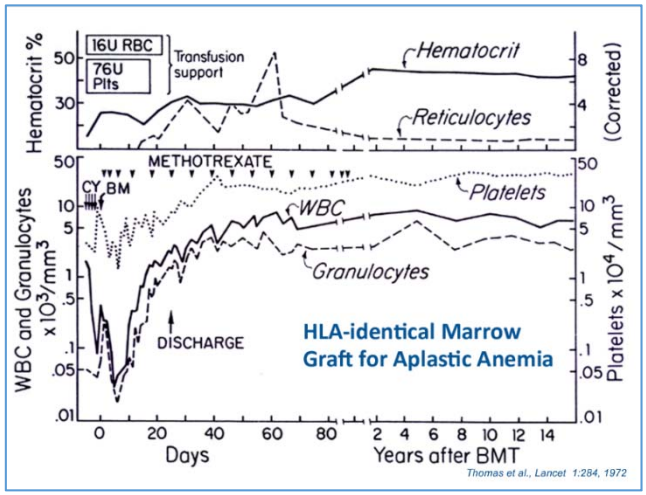


Diapositiva 27
Así que, para fines de la década de 1960, teníamos un montón de sobrevivientes caninos a largo plazo, lo que documentó que en esta especie de animales grandes era posible hacer que los injertos de médula ósea crecieran, y lograr sobrevivientes a largo plazo. El perro grande de la derecha, el mestizo grandote, de hecho es un perro que tenía dueño y nos lo enviaron con un linfoma no hodgkiniano, y demostramos que efectivamente el linfoma no hodgkiniano se podía curar con un trasplante de médula ósea.

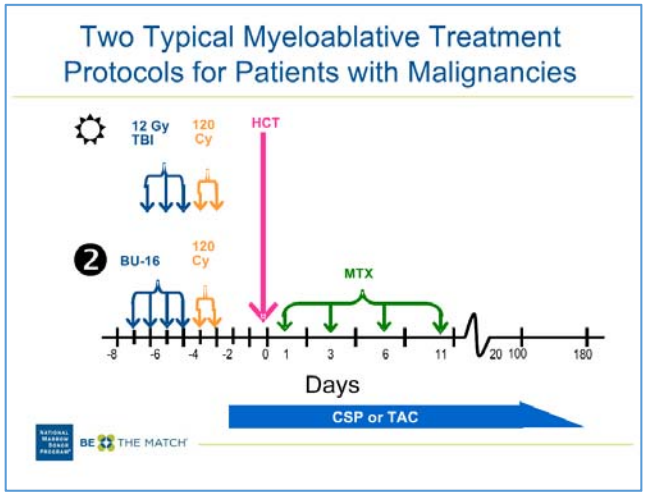
Diapositiva 28
Así que, basándonos en estos estudios, comenzamos en 1969 nuestros esfuerzos para hacer trasplantes a pacientes con muy diversas enfermedades malignas y no malignas. La mayoría de nuestros pacientes permanecían en salas de aislamiento como se ve en esta diapositiva a fines de 1980. Aquí se ve el primer paciente que recibió un trasplante con éxito, que tenía talasemia mayor; es el niñito en el centro de la fotografía. A la derecha, en la parte de abajo del centro, está su donante, que era su hermana. Detrás está el médico de Catania, Sicilia, que fue el médico que lo remitió, y a la derecha está la madre del paciente. Así que estas salas de aislamiento servían para mantener al paciente libre de bacterias, eso esperábamos. Los pacientes permanecían en estas habitaciones durante al menos 50 días antes de ser dados de alta de estas habitaciones, después de que el injerto había prendido por completo, un procedimiento muy trabajoso y engorroso.



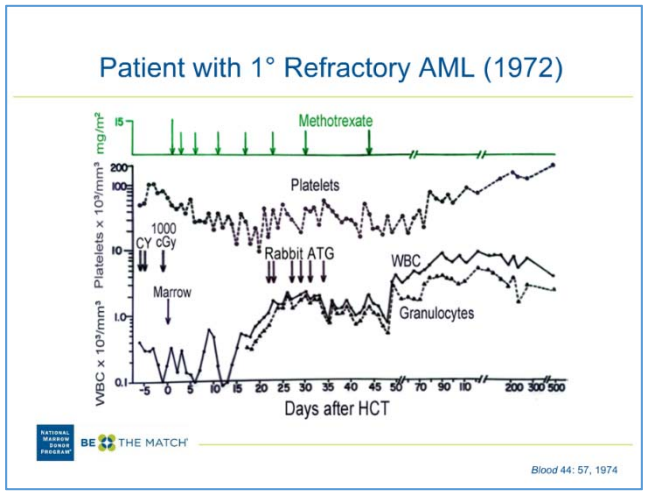
Diapositiva 29
Aquí se ve una diapositiva con muchos cambios de nuestro primer paciente con anemia aplásica, y notarán a la izquierda que el paciente recibía tratamiento con el régimen que desarrollamos en los monos rhesus, 50 mg/kg de ciclofosfamida, 4 veces, infusión de médula ósea y después el régimen de metotrexato los días 1, 3, 6 y 11, y una vez a la semana hasta el día 100. El paciente fue dado de alta del hospital aproximadamente el día 22 y de hecho vive hasta hoy con el injerto del donante. Hace 41 años que el paciente recibió el trasplante y su sistema hematopoyético funciona perfectamente.



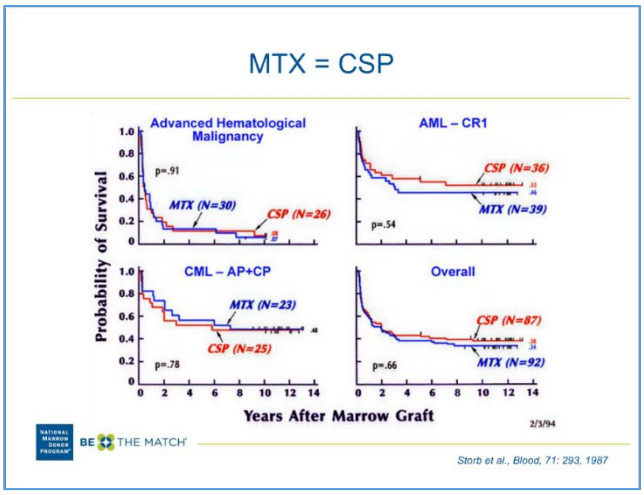
Diapositiva 30
En esta diapositiva se ven dos protocolos típicos del llamado tratamiento mieloablativo o ablación de médula ósea para pacientes con cánceres hematológicos. El número 1 es el régimen típico de irradiación en dosis alta fraccionada, 12 Grays administrados en seis fracciones a lo largo de tres días, y luego dos dosis de ciclofosfamida abajo, un régimen que incluye busulfán en vez de irradiación más ciclofosfamida. El busulfán fue un favorito de George Santos de Hopkins quien trabajó en el régimen inicial en ratas y luego nosotros continuamos con estudios en perros y primates no humanos. Este régimen es ahora el régimen principal para los pacientes con cánceres mieloides pero también con hemoglobinopatías. El trasplante se lleva a cabo el día cero, y el metotrexato se administra los días 1, 3, 6 y 11, y luego los pacientes reciben o bien ciclosporina o tacrolimús, y las razones de ello las voy a explicar en un momento.



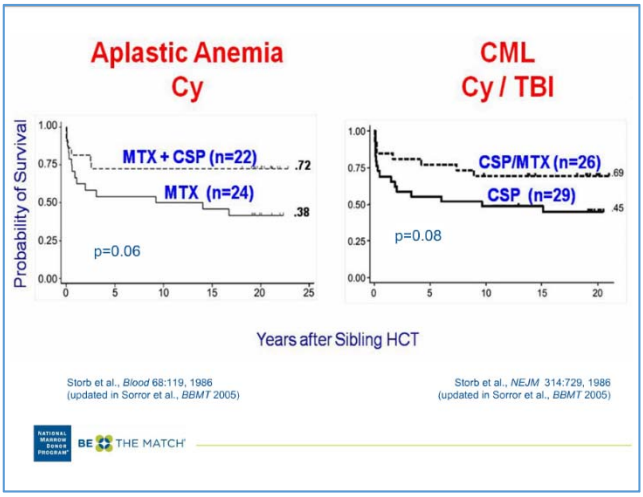
Diapositiva 31
Aquí hay otro paciente —uno de los primeros pacientes de 1972— que ilustra el uso de ciclofosfamida y en esa época todavía se hacía irradiación corporal total en una única dosis. Esta era una paciente con leucemia mielocítica aguda refractaria primaria que recibió un trasplante de un hermano idéntico en cuanto al HLA y recibió el metotrexato también, contrajo enfermedad del injerto contra el huésped y para entonces, basándonos en estudios con animales de laboratorio, tratamos la enfermedad del injerto contra el huésped con una globulina anti-timocito humano de conejo, y en este caso tuvo mucho éxito. Esta paciente de hecho se recuperó por completo, no tuvo leucemia recidivante y vivió hasta hace aproximadamente dos años cuando murió de cáncer de mama metastásico. En estudios posteriores, hasta fines de la década de 1970, demostraron que el tratamiento con globulina antitimocito para la enfermedad del injerto contra el huésped era equivalente a la prednisona, y dado que la prednisona era ligeramente mejor tolerada que la globulina antitimocito, la prednisona ha sido, desde entonces, el fármaco principal para tratar la enfermedad del injerto contra el huésped.



Diapositiva 32
Hasta finales de la década de 1970, la ciclosporina podíamos conseguirla a través de un amigo que teníamos en el laboratorio Sandoz, ahora Novartis, en Basilea, Suiza. Exploramos el estudio, el fármaco en perros, y encontramos que era equivalente al metotrexato, si bien tenía toxicidades ligeramente distintas. Basándonos en los estudios caninos, llevamos a cabo tres ensayos prospectivos aleatorizados pequeños de comparación del metotrexato con la ciclosporina en cánceres hematológicos avanzados y LMA en primera remisión y en LMC en fase crónica y acelerada, y como pueden ver en estos tres gráficos individuales, así como en el gráfico general, los dos fármacos eran equivalentes, lo que respaldaba los resultados de los estudios en caninos. Así que volvimos a empezar de nuevo y exploramos en perros combinaciones de varios fármacos y ciclosporina, y encontramos que una combinación en particular, un ciclo breve de metotrexato combinado con ciclosporina, era la más eficaz y, de hecho, sinérgica.

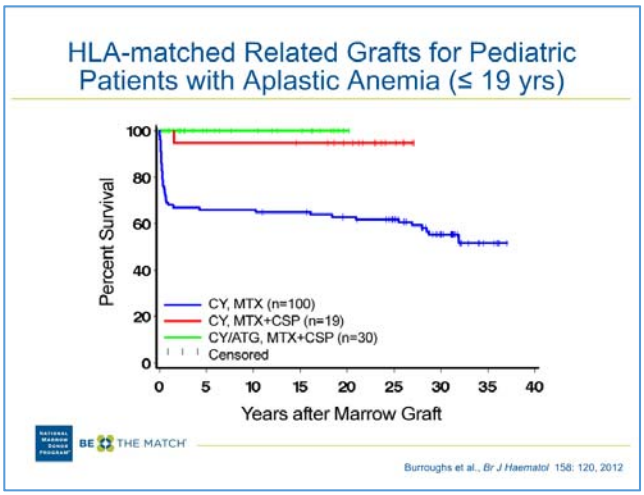


Diapositiva 33
Entonces llevamos a cabo dos ensayos prospectivos aleatorizados pequeños, uno con pacientes con anemia aplásica, acondicionados con Cytoxan, en el que comparamos la combinación de metotrexato solo, y el otro en pacientes con leucemia acondicionados con ciclofosfamida e irradiación corporal total, en el que comparamos la combinación con ciclosporina sola. Debo destacar que confirmamos la acción sinérgica de la combinación para prevenir la enfermedad del injerto contra el huésped, especialmente la enfermedad del injerto contra el huésped grave, en comparación con el otro fármaco solo, y como pueden ver aquí en estos estudios de seguimiento a largo plazo, que se extendieron 24 y 22 años, respectivamente, la combinación de fármacos claramente dio resultados superiores, y la combinación de metotrexato con ciclosporina continúa siendo de hecho el tratamiento de referencia para prevenir la GVHD.



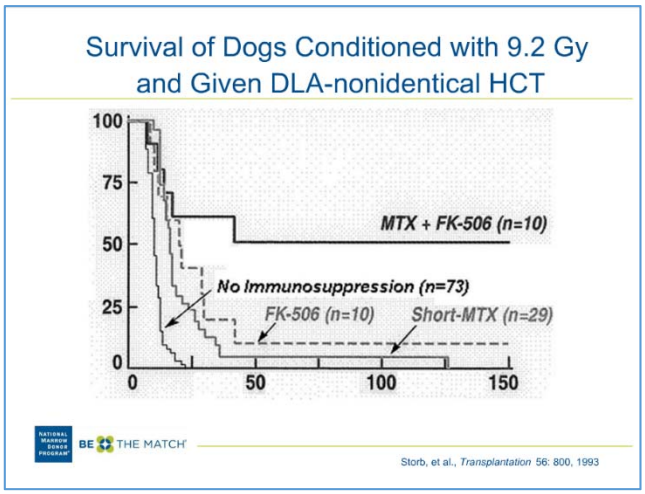
Diapositiva 34

Aquí ilustro el mismo desarrollo para pacientes pediátricos con anemia aplásica acondicionados con ciclofosfamida. La línea azul muestra los resultados iniciales en pacientes a quienes se administró metotrexato a largo plazo donde, tras casi 40 años, todavía el 50 por ciento de los pacientes continúa con vida. Algunas de las pérdidas tardías lamentablemente se debieron a cirrosis hepática o carcinoma hepático debido al hecho de que, en esos primeros años, el 45 por ciento de nuestros pacientes estaban infectados de hepatitis C. Esa fue la época anterior a que se conociera la hepatitis C y muchos de estos pacientes de hecho contrajeron hepatitis C por medio de transfusiones. La línea roja o naranja muestra los pacientes que recibieron acondicionamiento con ciclofosfamida, y metotrexato y ciclosporina después del injerto y pueden ver que el 95 por ciento de esos pacientes están vivos después de 25 años, y la línea verde muestra el régimen de tratamiento actual, que consiste en acondicionamiento con ciclofosfamida y globulina antitimocito, e inmunosupresión posterior al injerto con metotrexato y ciclosporina, y notarán que en los últimos 20 años, literalmente cada uno de estos pacientes está vivo. Así que esto muestra la evolución del trasplante en una categoría de enfermedad en particular.



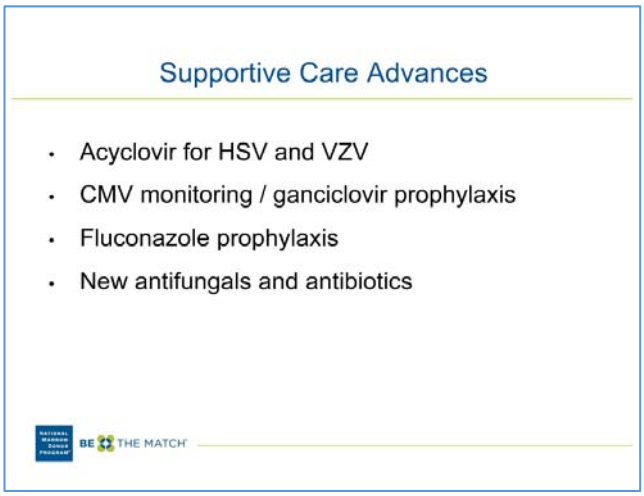
Diapositiva 35

A comienzos de la década del ‘90, apareció otro inhibidor de la calcineurina, tacrolimús, fabricado por un laboratorio japonés. Realizamos estudios caninos que se publicaron en 1993 y que mostraron nuevamente que el tacrolimús, llamado aquí FK-506, por sí mismo no era en nada mejor que el metotrexato, si bien la combinación pareció ser sinérgica en ensayos clínicos multicéntricos subsiguientes en receptores emparentados y no emparentados, y confirmaron la equivalencia del metotrexato y tacrolimús, y metotrexato y ciclosporina, así que se puede usar cualquiera de estas tres combinaciones de fármacos, y también sigue siendo el tratamiento de referencia por el momento para prevenir la enfermedad del injerto contra el huésped.



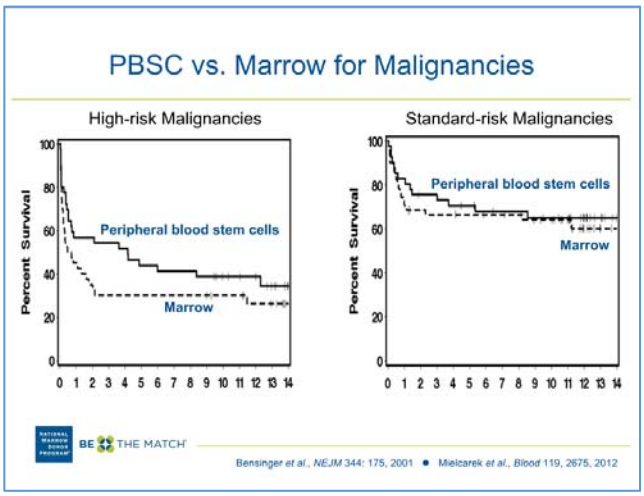
Diapositiva 36

Desde entonces, se han hecho tremendos avances en el tratamiento complementario, no solo con transfusiones sino también, lo que es muy importante, en la prevención o tratamiento de infecciones. La incorporación de aciclovir durante un año después del trasplante ha prevenido la reactivación del virus del herpes simple y la reactivación de la varicela literalmente por completo. Ahora tenemos tecnologías para controlar con técnicas moleculares la reactivación del citomegalovirus y, si a los pacientes se les reactiva el citomegalovirus, les damos profilaxis con ganciclovir o foscarnato. Tenemos profilaxis con fluconazol para la prevención de las infecciones fúngicas y por levaduras, y tenemos antifúngicos y antibióticos nuevos muy potentes, y los antifúngicos para tratar las infecciones por mohos, y —no lo incluí en esta diapositiva– también tenemos Bactrim para la prevención de la infección por *Pneumocystis carinii* o, más recientemente, *Pneumocystis jirovecii*.

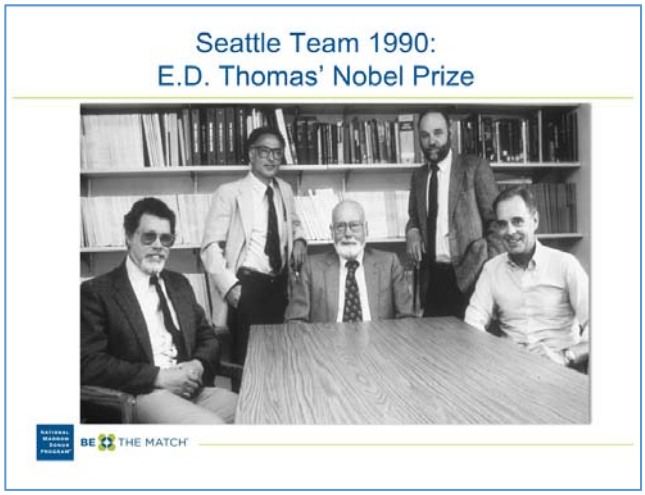


Diapositiva 37

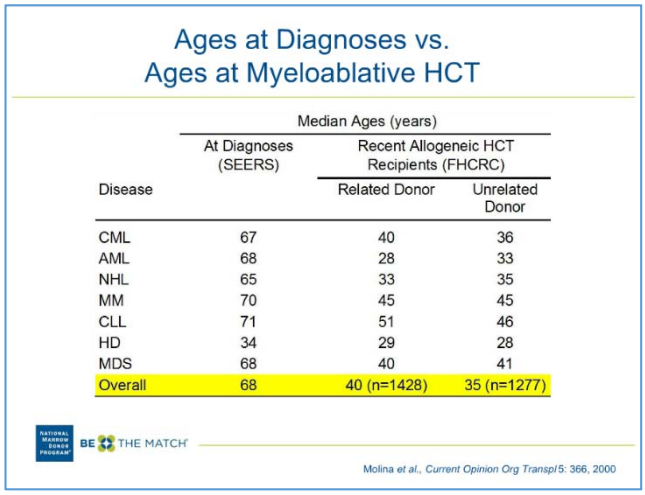
Otro desarrollo interesante ha sido el uso de células madres sanguíneas periféricas. Como mencioné antes, exploramos estas células madres sanguíneas periféricas tanto en perros como en monos en la década de 1960 y comienzos de la del ‘70, y encontramos que estaban presentes cuando introducíamos factores de crecimiento, estas células ahora se pueden movilizar en grandes cantidades hacia la sangre periférica y extraerse en un par de horas. Un estudio aleatorizado que se publicó inicialmente en 2001 y luego se actualizó más recientemente, en 2012, muestra que las células madres sanguíneas periféricas tanto en cánceres de alto riesgo como en cánceres de riesgo estándar, son equivalentes al injerto de médula ósea. Como resultado de ello, cada vez se hacen más trasplantes de células madres de sangre periférica que trasplantes de médula ósea.



Diapositiva 38
En 1990, mi antiguo mentor Don Thomas, aquí sentado en el medio, recibió el Premio Nobel por el trabajo realizado sobre el trasplante de médula ósea. Y como pueden ver en esta fotografía en particular, todos nosotros de hecho nos estábamos haciendo mayores y la cuestión fue qué hacer sobre los pacientes mayores con enfermedades hematológicas. Los regímenes de acondicionamiento que se usaban entonces eran demasiado intensos para que los tolerasen personas de más de 50 o 55 años.

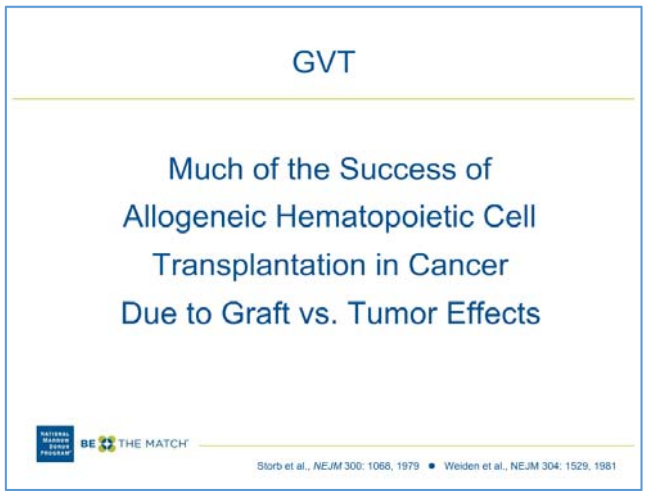


Diapositiva 39
Y como pueden ver en esta publicación del año 2000, cuando estudiamos distintos casos de trasplantes recientes en Seattle, la mediana de edad de los pacientes con distintos cánceres de la sangre al momento del diagnóstico era de 68 años, y la mediana de edad para los receptores de trasplantes de donante emparentado en el Hutchinson Center era de 40 años, y para receptores de trasplantes de donante no emparentado era de solo 35 años. Así que volvimos a empezar de cero en el laboratorio de animales y nos dimos cuenta de que deberíamos poder desarrollar una tecnología que nos permitiese aprovechar el efecto del injerto contra el tumor.

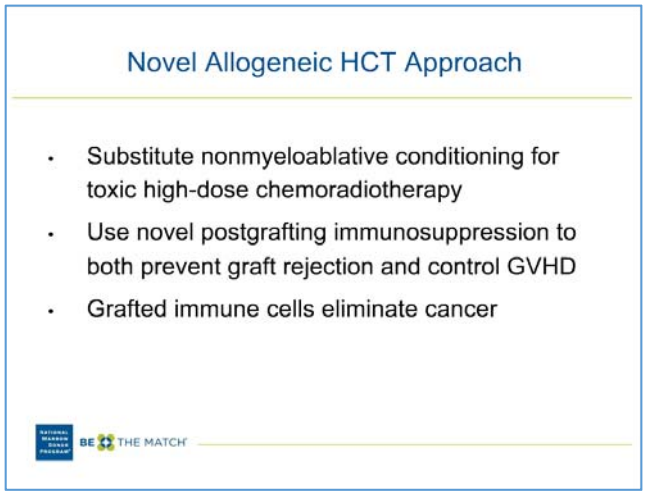


Disease	Median Ages (years) At Diagnoses (SEERS)	Recent Allogeneic HCT Recipients (FHCRC) Related Donor	Recent Allogeneic HCT Recipients (FHCRC) Unrelated Donor
CML	67	40	36
AML	68	28	33
NHL	65	33	35
MM	70	45	45
CLL	71	51	46
HD	34	29	28
MDS	68	40	41
Overall	68	40 (n=1428)	35 (n=1277)

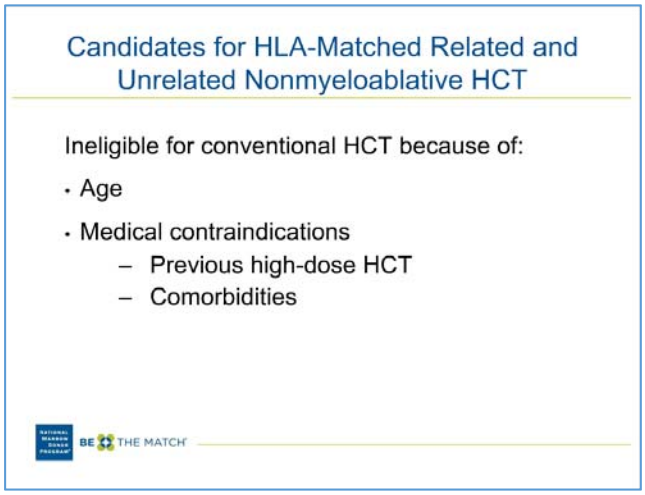
Diapositiva 40
El efecto del injerto contra el tumor fue observado por primera vez en la década de 1950 por Barnes y Loutit en Harwell National Laboratories en Inglaterra. Lo describimos en la década de 1970 y a comienzos de la del '80, en pacientes humanos con leucemia aguda, y determinamos que gran parte del éxito de los trasplantes de células hematopoyéticas alogénicos en el cáncer se debía al efecto del injerto contra el tumor.



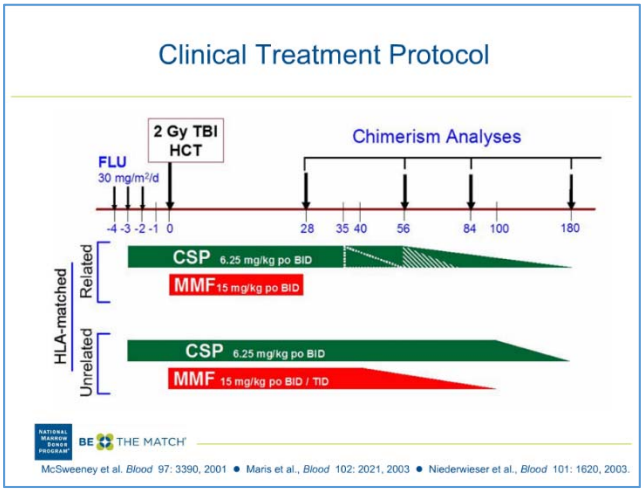
Diapositiva 41
De modo que la idea de desarrollar un régimen de tratamiento que nos permitiera usar el trasplante y luego permitir que el trasplante haga lo suyo para eliminar el tumor y, para lograrlo, sustituimos la quimioterapia tóxica de dosis alta por lo que llamamos acondicionamiento no mieloablativo o de intensidad mínima. Facilitamos que el injerto prenda mediante el uso de una novedosa inmunosupresión posterior al injerto que a la vez ayudó a controlar la enfermedad del injerto contra el huésped. Así que la idea fue permitir que las células inmunitarias injertadas eliminen el cáncer.



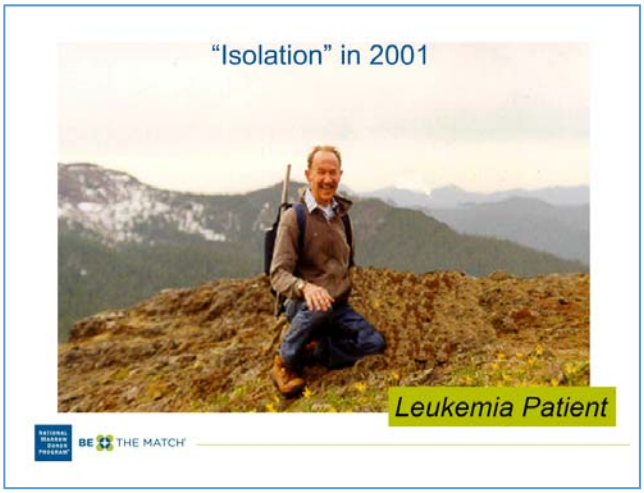
Diapositiva 42
Los candidatos para estos trasplantes serían los pacientes no aptos para recibir un trasplante convencional debido a su edad o a contraindicaciones médicas, es decir que habían fracasado con un trasplante anterior con dosis altas o sufrían de comorbilidades.



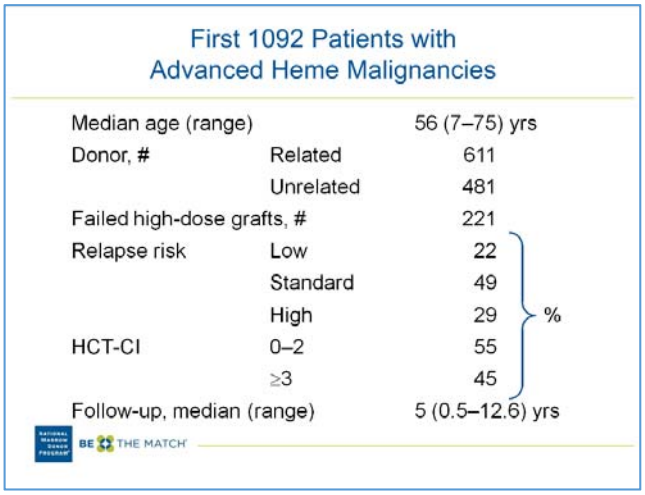
Diapositiva 43
Como dije, el régimen se desarrolló primero en un modelo canino y luego se pasó directamente al uso clínico. Permite los trasplantes HLA-compatibles de donantes emparentados y no emparentados, y consiste en un fármaco llamado fludarabina, que es un inmunosupresor que se administra en tres infusiones diarias de media hora, seguidas de solo 2 Grays de irradiación corporal total, que es la dosis de intensidad mínima. La inmunosupresión posterior al trasplante consiste principalmente en ciclosporina administrada por un período prolongado así como un fármaco llamado micofenolato de mofetilo, que es un antimetabolito bastante específico para linfocitos.



Diapositiva 44
El régimen de tratamiento es tan liviano que generalmente el trasplante se hace de manera ambulatoria. Si los pacientes viven en Seattle en un radio de media hora del centro de trasplantes, se quedan en su casa; de lo contrario, viven en un apartamento. Aquí pueden ver a un paciente con leucemia, un señor de casi setenta años que a las dos semanas-dos semanas y media del trasplante ya estaba haciendo senderismo en las montañas Cascade. El aislamiento en 2001 parece un poco diferente del aislamiento de 1980.

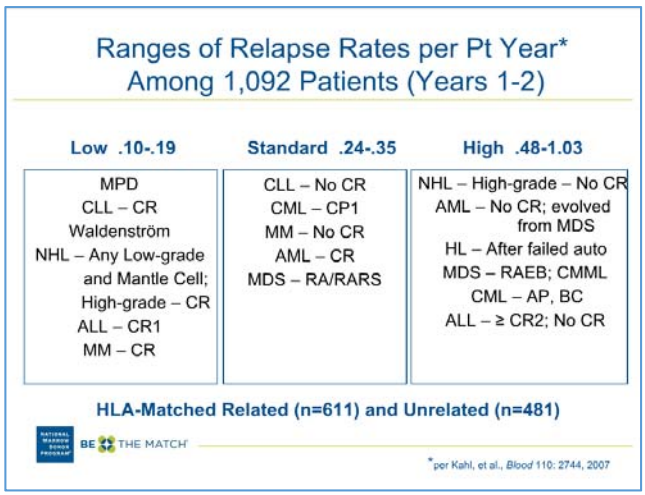


Diapositiva 45
Recientemente resumimos los datos de los primeros 1100 pacientes con cánceres hematológicos avanzados, pero la mediana de edad era 56 años con una variación de 7 a 75 años, y un poco más de la mitad de los donantes eran emparentados. En 221 pacientes, el trasplante con dosis alta fracasó, y como pueden ver aquí, la mitad de los pacientes tenían un riesgo estándar de recaida, el 22 por ciento tenía un riesgo bajo y el 29 por ciento, un riesgo alto, y también ven que casi la mitad de los pacientes tenían tres comorbilidades o más, y la mediana de seguimiento es de cinco años.



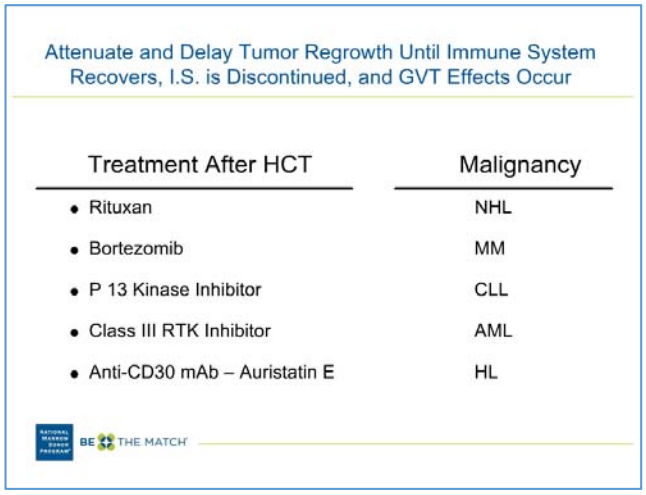
Diapositiva 46

Aquí se muestra el intervalo de las tasas de recaida de los pacientes. Pudimos categorizar a los pacientes en tres grupos. A la izquierda, se ven pacientes con un riesgo bajo de recaida, y esto incluye a pacientes con trastornos mieloproliferativos, con leucemia linfocítica crónica en remisión, con enfermedad de Waldeström, casi todos los de linfoma no hodgkiniano excepto por alto grado no en remisión, leucemia linfoblástica aguda en primera remisión, y también mieloma en remisión. En el medio se ven los pacientes con riesgo de recaida estándar, los pacientes con leucemia linfocítica crónica no en remisión, pacientes con leucemia mielocítica crónica, mieloma múltiple no en remisión, pacientes con leucemia mielocítica aguda, generalmente pacientes de más edad en remisión y síndrome mielodisplásico de grado bajo. A la derecha se pueden ver los pacientes con riesgo alto de recaida. Claramente, el procedimiento en realidad no funciona de manera satisfactoria.



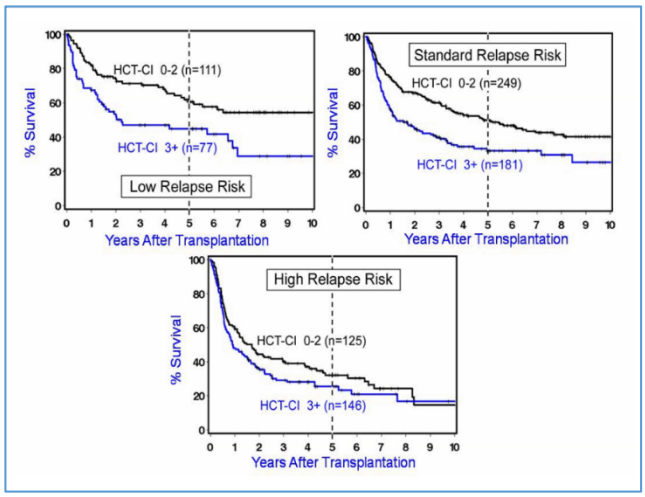
Diapositiva 47

Con el fin de enfrentar este problema de las recaidas, hemos introducido una serie de tratamientos posteriores al trasplante que son específicos para la enfermedad, usando fármacos que en sí mismos no son curativos y que, de hecho, sirven para retrasar el recrecimiento del tumor hasta que el sistema inmunitario del paciente se recupere y hasta que se suspenda la inmunosupresión, y creemos que los efectos del injerto contra el tumor pueden ocurrir, y pueden ver aquí que usamos rituxán o bortezomib en pacientes con linfoma no hodgkiniano. Usamos un inhibidor de la P13 cinasa en los pacientes con CLL, un inhibidor del receptor de la tirosina cinasa de clase III en los pacientes con LMA, y un conjugado anticuerpo-toxina para los pacientes con linfoma de Hodgkin. También estamos intentando entender mejor la enfermedad del injerto contra el huésped en estos pacientes, y de hecho tenemos varios ensayos en curso cuyo fin es mejorar esa complicación en particular.



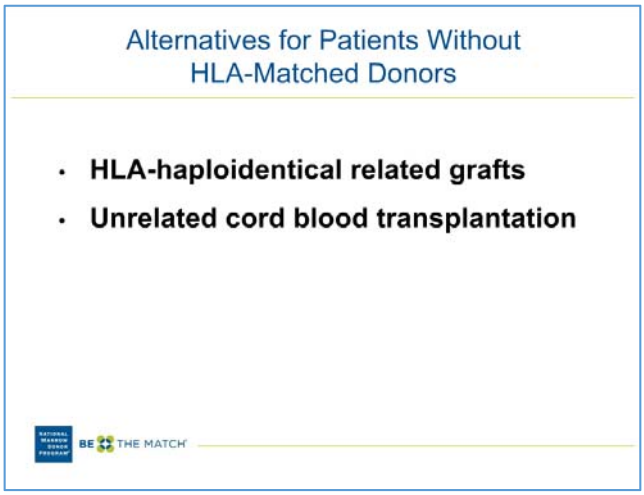
Diapositiva 48

Aquí vemos los resultados. En la izquierda arriba están pacientes con un riesgo bajo de recaida y, si tienen entre cero y dos comorbilidades, tienen una supervivencia de cinco años en más del 60 por ciento, pero, si tienen comorbilidades, la supervivencia desciende al 45 por ciento. El panel de arriba a la derecha muestra a los pacientes con un riesgo de recaida estándar. Nuevamente si tienen entre cero y dos comorbilidades, la supervivencia a cinco años es ligeramente de más del 50 por ciento, pero si tienen comorbilidades, desciende al 35 por ciento. Y abajo de todo están los pacientes con riesgo alto de recaida. Los pacientes que tienen pocas comorbilidades tienen una supervivencia a cinco años en un poco más del 30 por ciento, mientras que, si tienen comorbilidades, desciende al 25 por ciento. Nuevamente, nuestro objetivo es intentar mejorar estas probabilidades.



Diapositiva 49

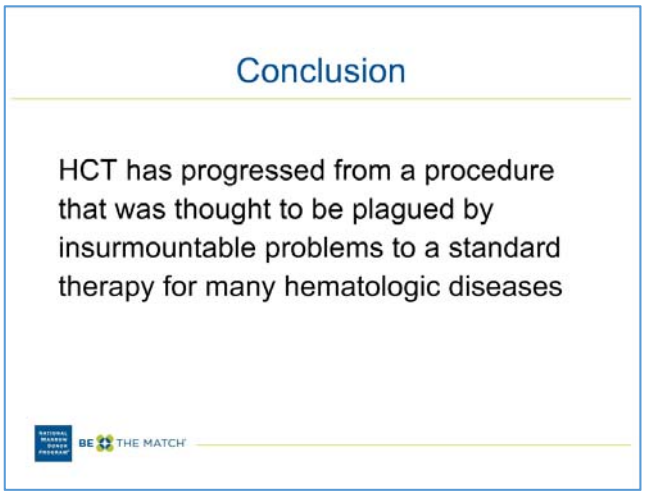
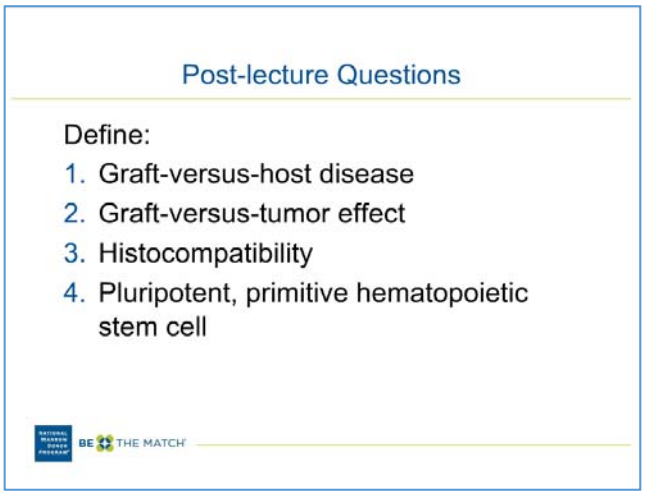
Los desarrollos más recientes de hecho apuntan a expandir el trasplante para literalmente incluir a todos los pacientes. Esto ha permitido dos procedimientos de trasplante. Uno es utilizar injertos de donante emparentado HLA-haploidéntico en el que no hay una compatibilidad HLA total sino solo de uno de los dos haplotipos HLA, mientras que el otro puede ser completamente diferente. El régimen que usamos aquí ha sido desarrollado en colaboración con Johns Hopkins e incluye un régimen de acondicionamiento que es muy similar al que les mostré hace un momento, con el agregado de ciclofosfamida en dosis pequeñas antes del trasplante y luego hidroxiciclofosfamida los días 3 y 4 después del trasplante, seguida de micofenolato de mofetilo. Otra área que ha recibido mucha atención es el trasplante de sangre de cordón umbilical de donante no emparentado, que se basa en las observaciones originales en la Universidad de Minnesota, pionera en los trasplantes con dos unidades de sangre umbilical, y también estamos usando esta tecnología. Así que creemos que con el tiempo no habrá ningún paciente que quede excluido del trasplante.



Diapositiva 50
Nada de esto hubiese sido posible sin la valentía de los pacientes que confiaron en nosotros y participaron en estos ensayos clínicos. Aquí se ve una foto de 1988 de una reunión de pacientes sobrevivientes a largo plazo, y en el año 2011 hubo otra a la que asistieron aproximadamente 500 de estos pacientes.

Diapositiva 51
Esto tampoco hubiera sido posible sin la ayuda de todos mis colegas de Fred Hutchinson Cancer Research Center, en el panel de arriba a la izquierda, de Seattle Cancer Care Alliance, que es una colaboración entre la Universidad de Washington, el Children's Hospital y el Hutchison Center, y también abajo a la izquierda y a la derecha, la Universidad de Washington y Children's Hospital.

Diapositiva 52
En conclusión, el trasplante hematopoyético ha progresado de ser un procedimiento que en un momento pensábamos estaba plagado de problemas sin solución a ser un tratamiento estándar para muchas enfermedades hematológicas.



Diapositiva 53
Y, finalmente, aquí hay varias preguntas posteriores a la conferencia: defina la enfermedad del injerto contra el huésped, los efectos del injerto contra el tumor, la histocompatibilidad y el concepto de célula troncal primitiva pluripotente.