

**Características Biológicas de la Recuperación Hematopoyética
en Pacientes sometidos a Trasplante de Sangre de Cordón
Umbilical**

Autor: Adriana Gascón Buj

Director: Jordi Sierra Gil

Co-director: María Leonor Senent Peris

Trabajo de Investigación. Septiembre de 2011

Departament de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| Resumen..... | 2 |
| Introducción..... | 3 |
| Material y métodos..... | 4 |
| • Pacientes y características del trasplante..... | 4 |
| • Regímenes de quimioterapia (QT) de acondicionamiento para el TSCU y profilaxis de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH)..... | 4 |
| • Análisis de las muestras de médula ósea..... | 5 |
| • Definiciones y objetivos del estudio..... | 6 |
| • Recolección de datos y factores pronósticos..... | 7 |
| • Análisis estadístico..... | 7 |
| Resultados..... | 8 |
| • Pacientes y características del trasplante..... | 8 |
| • Incidencia y distribución cronológica del aumento de blastos no leucémicos..... | 9 |
| • Características biológicas del aumento de blastos no leucémicos..... | 10 |
| • Diagnóstico diferencial del aumento de blastos no leucémicos..... | 10 |
| • Factores pronósticos para el aumento de blastos no leucémicos tras el TSCU..... | 12 |
| • Influencia del aumento de blastos no leucémicos en los resultados post-TSCU..... | 12 |
| Discusión..... | 14 |
| Conclusiones..... | 15 |
| Bibliografía..... | 16 |

RESUMEN

En la médula ósea (MO) de pacientes sometidos a trasplante de sangre de cordón umbilical (TSCU) se observa, en ocasiones, un aumento de precursores linfoides B que pueden adoptar un hábito blástico, planteándose el diagnóstico diferencial con una recidiva leucémica.

El objetivo de este estudio ha sido estudiar la incidencia del aumento de células blásticas no leucémicas en MO tras el TSCU y caracterizarlas mediante el estudio inmunofenotípico. Así como estudiar factores relacionados con dicho aumento.

Para ello se estudiaron 165 pacientes adultos sometidos a TSCU en una única institución de los que se obtuvieron muestras de MO para su estudio citomorfológico y de quimerismo hematopoyético. Aquellas muestras con un $\geq 5\%$ de blastos se evaluaron por citometría de flujo multiparamétrica (CFM) para poder realizar el diagnóstico diferencial con blastos leucémicos.

Se halló $\geq 5\%$ de blastos no leucémicos en 43 pacientes, siendo la incidencia acumulada a 1 año del 26.1%, este aumento de blastos no malignos ocurrió en una mediana de 101 días tras el TSCU. Los 43 casos mostraron una quimera completa del donante. El estudio de CFM se realizó en 36 de estos pacientes, detectándose en 33 de ellos (91.6%) que las células blásticas correspondían a precursores linfoides B en todos los estadios madurativos.

El análisis estadístico reveló que el aumento de blastos no leucémicos en MO tras el TSCU se asoció con una baja incidencia de EICH (aguda y crónica) y con la infusión de un número elevado de linfocitos contenidos en la unidad de SCU.

INTRODUCCIÓN

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento terapéutico cada vez más empleado para el tratamiento de neoplasias onco-hematológicas (leucemias agudas, síndromes mielodisplásicos, etc.) y de hemopatías no malignas como la aplasia medular y algunas hemopatías congénitas.

Existen dos modalidades de TPH según el tipo de donante: TPH autólogo (en el que el donante es el propio paciente) y TPH alogénico (en el que el donante es un donante sano diferente al propio paciente).

Según la fuente de la que procedan los progenitores hematopoyéticos (PH), los TPH se pueden clasificar en: trasplantes de médula ósea (TMO), trasplantes de sangre periférica (TSP) y trasplantes de sangre de cordón umbilical (TSCU).¹

En este trabajo nos hemos centrado en el trasplante alogénico de sangre de cordón umbilical (TSCU) de adultos, una fuente de progenitores hematopoyéticos inicialmente utilizada solo en niños pero que cada vez se emplea más en el TPH de adultos.

En la médula ósea (MO) de pacientes sometidos a TSCU se observa, en ocasiones, un aumento de precursores linfoides B (también llamados hematogonias) coincidiendo con la restitución inmunológica. Estas células, pueden adoptar un hábito blástico siendo difíciles de diferenciar de los blastos malignos, planteándose entonces el diagnóstico diferencial con una recidiva leucémica.²⁻⁴

Aunque estudios previos han observado que este fenómeno es más frecuente tras el TSCU que tras el trasplante alogénico de médula ósea⁴⁻⁶, la bibliografía publicada sobre el aumento de blastos no leucémicos en el ámbito de TSCU todavía es escasa. Por ello, aspectos como la incidencia, cinética, características biológicas y significado clínico del aumento de blastos no leucémicos en MO tras el TSCU deben ser todavía establecidos.

Dado que los precursores linfoides B tienen una morfología similar a los blastos leucémicos, la microscopía óptica es insuficiente para realizar un correcto diagnóstico diferencial, el cual debe basarse en las características inmunofenotípicas de dichos tipos celulares, utilizando para ello técnicas de citometría de flujo multiparamétrica (CFM).^{7,8}

En el presente trabajo se han estudiado muestras de MO de 165 pacientes de una única institución sometidos a TSCU. El objetivo del trabajo ha sido analizar la incidencia del aumento de blastos no leucémicos en el post-TSCU y caracterizarlos mediante CFM. Se han analizado, además, probables factores relacionados con el aumento de blastos no leucémicos, así como el posible impacto de dicho aumento en la supervivencia y resultados post-trasplante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes y características del trasplante

Se incluyeron en el estudio los pacientes adultos sometidos a TSCU con acondicionamiento mieloablatoivo en el Hospital Universitari i Politènic La Fe (Valencia) entre mayo de 2001 y mayo de 2010. Todos los pacientes incluidos tenían preindimiento mieloide, definido como más de 3 días con un recuento absoluto de neutrófilos mayor de $0.5 \times 10^9/L$ y estudio de quimerismo hematopoyético completo del donante. Los pacientes sometidos a TSCU con acondicionamiento de intensidad reducida fueron excluidos del estudio. El tipaje HLA del donante-receptor se realizó por baja resolución para el HLA-A y HLA-B y por alta resolución para el HLA-DRB1. Se definió como fase precoz de la enfermedad al TSCU a la leucemia mieloide crónica en fase crónica, leucemia aguda en primera o segunda remisión completa (RC), síndrome mielodisplásico no tratado o en RC, y linfoma en RC.

Regímenes de quimioterapia (QT) de acondicionamiento para el TSCU y profilaxis de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH)

El esquema de QT de acondicionamiento utilizado incluyó tiotepa (TT), busulfán (BU) oral o intravenoso, ciclofosfamida (CI) y globulina antitimocítica (ATG) en 58 pacientes (35%),⁹ de los cuales 27 recibieron ATG de caballo (Lymphoglobulin®, Mériex, Lyon, Francia) y 31 recibieron ATG de conejo (Thymoglobulin®, Genzyme, Framingham, MA, USA). Los 107 pacientes restantes (65%) recibieron BU intravenoso, fludarabina y ATG de conejo como régimen de acondicionamiento.¹⁰

La profilaxis de la EICH aguda se realizó con ciclofosfamida y prednisona en 111 pacientes (67%), y con ciclofosfamida y micofenolato en el resto, 54 pacientes (33%). Los grados de EICH agudo y crónico se evaluaron según los criterios publicados.^{11,12}

Análisis de las muestras de médula ósea

Las muestras de MO se obtuvieron por aspirado medular de forma sistemática en los siguientes días tras el TSCU: día +28, día +56, día +100, día +180 y día +365. Se realizó un estudio citomorfológico de todas ellas para lo cual se utilizó la tinción de May-Grünwald-Giemsa. Se realizó un conteo diferencial de un mínimo de 300 células nucleadas en cada caso mediante microscopía óptica.

Las muestras de MO en las que se detectaba por citomorfología un aumento de células de hábito blástico fueron evaluadas por citometría de flujo multiparamétrica (CFM) para su correcta caracterización y diagnóstico diferencial.

En el estudio de las muestras por citometría de flujo se utilizó un citómetro de 4 colores. Para la caracterización de los precursores linfoides B por CFM se empleó la combinación de los siguientes marcadores de antígeno de superficie: CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD38 y TdT. Los blastos leucémicos fueron caracterizados según el estudio inmunofenotípico del diagnóstico. El diagnóstico diferencial por CFM entre los precursores linfoides B y los blastos leucémicos se basó en el patrón normal de maduración de los precursores linfoides B en la MO, el cual contempla 3 etapas de maduración (Tabla 1).^{8,13,14}

Finalmente, los estudios de quimerismo hematopoyético en MO se realizaron en los mismos días post-TSCU nombrados previamente y utilizando la técnica de PCR-STR.

Tabla 1. Expresión antigénica de los estadios de maduración de los precursores linfoides B^{8,13,14}

| Antígeno | Inmaduro (estadio 1) | Intermedio (estadios 2 y 3) | Células B maduras |
|----------|-------------------------|--------------------------------|-------------------|
| TdT | + | - | - |
| CD34 | + | - | - |
| CD10 | intenso | débil | - |
| CD19 | débil | intenso | + |
| CD22 | débil | débil | + |
| CD20 | - | débil | + |
| CD38 | Intenso | intenso | variable |
| slg | - | -/+ | + |

TdT: deoxinucleotidil transferasa terminal; Igs: inmunoglobulina de superficie

Definiciones y objetivos del estudio

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la incidencia del aumento de blastos no leucémicos en MO tras el TSCU, el cual fue definido como la presencia en el estudio citomorfológico de MO de un porcentaje igual o superior a 5% de blastos no leucémicos. El diagnóstico diferencial con los blastos malignos se realizó mediante el análisis con CFM y el estudio de quimerismo hematopoyético.

El objetivo secundario fue analizar en qué periodo del post-TSCU era más frecuente el aumento de blastos no leucémicos.

Otras variables analizadas fueron la supervivencia global (SG), mortalidad no relacionada con la recaída (MNR), riesgo de recaída (RR), supervivencia libre de enfermedad (SLE) y desarrollo de EICH crónica y aguda tras el TSCU. El seguimiento

de todos los pacientes se realizó hasta su fallecimiento o hasta la última fecha de seguimiento.

Recolección de datos y factores pronósticos

Los datos fueron recogidos prospectivamente y registrados. Veintidós pacientes junto con sus características del trasplante fueron evaluados para establecer su relación con el aumento de blastos no leucémicos en MO. Los datos demográficos y las características del trasplante estudiados fueron: edad; sexo; peso; trasplante autólogo o alogénico previos; enfermedad que motivó el trasplante; fase de la enfermedad al TSCU; serología de citomegalovirus (CMV) pre-TSCU; grado de compatibilidad HLA; incompatibilidad ABO; sexo del donante; celularidad nucleada total (CNT) de sangre de cordón umbilical (SCU) infundida y número de células CD34⁺ previos a la criopreservación de la SCU; viabilidad y número total de linfocitos CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺/56⁺, y CD19⁺ infundidos; régimen de acondicionamiento; tipo de ATG; y profilaxis para la EICH aguda. El aumento de blastos no leucémicos se estudió en relación al desarrollo de EICH aguda.

Análisis estadístico

El test exacto de Fisher, la prueba U de Mann-Whitney y test t de Student se emplearon para analizar las diferencias en la distribución de las variables entre los subgrupos de pacientes.

Las probabilidades de: aumento de blastos no leucémicos, MNR (todas las muertes ocurridas antes de la recaída), RR, y desarrollo de EICH crónica, se estimaron por el método de incidencia acumulada (IA) para tener en cuenta los riesgos competitivos, éstos se compararon mediante el test de Gray.¹⁵

Las curvas de SG y de SLE se trazaron utilizando el método actuarial de Kaplan-Meier,¹⁶ y la diferencia entre las curvas se analizaron por el test de log-rank.¹⁷ En el análisis de la IA del aumento de blastos no leucémicos, muerte, recaída, y desarrollo de una

neoplasia mieloide secundaria o un síndrome linfoproliferativo post-trasplante se consideraron como eventos de riesgos competitivos.

Las características seleccionadas para la inclusión en el análisis multivariante fueron aquellas para las cuales existía alguna asociación significativa en el análisis univariante ($P < 0.05$). El análisis multivariante se realizó utilizando el modelo de Fine y Gray para la IA.¹⁸

Para evitar el sesgo tiempo-dependiente, solo los pacientes que sobrevivieron más de 365 días se incluyeron en el análisis para establecer la relación entre un aumento de blastos no leucémicos (medido durante el primer año post-TSCU) y la SG, SLE, RR y MNR.

Los datos sobre el seguimiento de los pacientes se actualizó en julio de 2011, y la mediana de seguimiento de los supervivientes fue de 63 meses (rango, 11-156 meses).

Para el estudio estadístico se utilizaron los programas BMDP (BMDP Statistical Software, Los Angeles, CA),¹⁹ y R 2.9.2 para la IA y el modelo de Fine y Gray.

RESULTADOS

Pacientes y características del trasplante

Ciento sesenta y cinco pacientes de 183 adultos sometidos a TSCU sobrevivieron más de 28 días, tuvieron prendimiento mieloide, y fueron incluidos en el estudio. La Tabla 2 muestra las características de los pacientes y del trasplante. Brevemente, 100 pacientes (61%) eran hombres, y la mediana de edad del receptor y el peso al trasplante fueron de 32 años (rango, 15-52 años) y 70 kg (rango, 37-112 kg), respectivamente. Veintitrés pacientes habían sido sometidos a un trasplante previo (20 a autólogo y 3 a alogénico). Las enfermedades de base que con mayor frecuencia motivaron el trasplante fueron la leucemia mielode aguda (LMA) (36%), leucemia linfoblástica aguda (LLA) (35%), y leucemia mieloide crónica (13%). La IgG de CMV pre-TSCU fue positiva en 130 casos (79%). En el 67% de los pacientes el TSCU se llevó a cabo con una enfermedad de base en fase precoz. El grado de compatibilidad HLA donante/receptor fue: 6/6 en diez pacientes, 5/6 en 46 pacientes, y 4/6 en 109 pacientes. La mediana de la CNT infundida

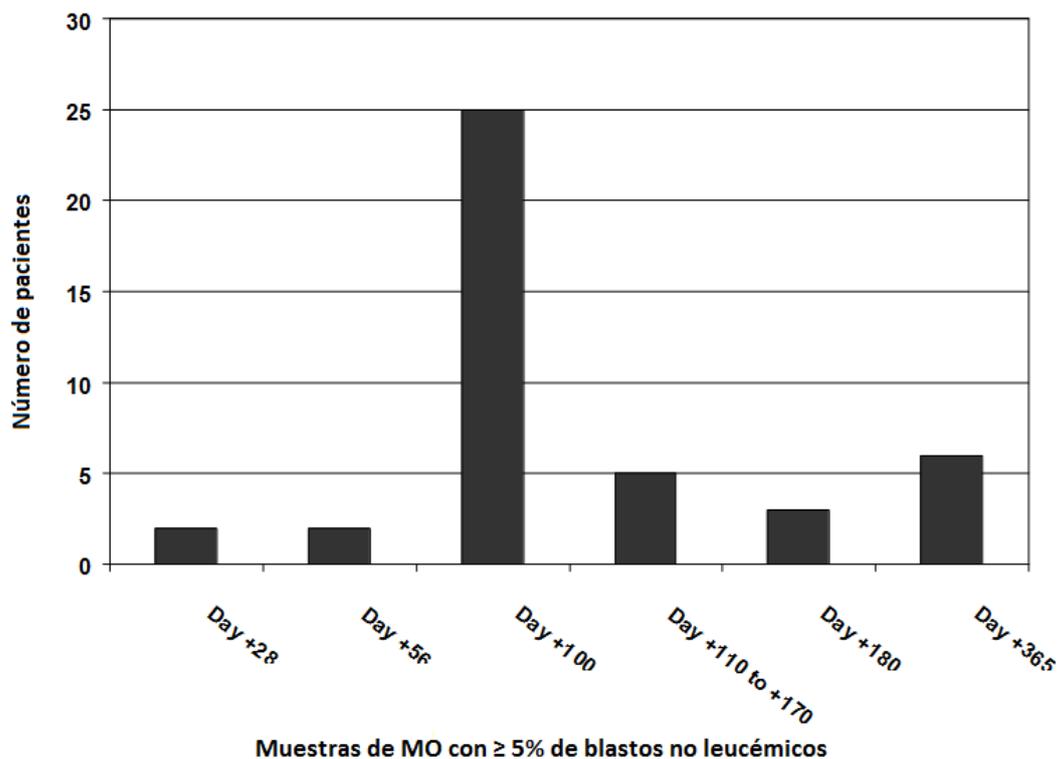
y del número de células CD34+ a la criopreservación fueron de $2.88 \times 10^7/\text{kg}$ de peso del paciente (rango, $1.4\text{-}7.52 \times 10^7/\text{kg}$), y $1.63 \times 10^5/\text{kg}$ (rango, $0.17\text{-}6.76 \times 10^5/\text{kg}$), respectivamente.

Incidencia y distribución cronológica del aumento de blastos no leucémicos

Cuarenta y tres pacientes presentaron en el estudio citomorfológico de MO un porcentaje igual o superior a 5% de células de hábito blástico no malignas tras el TSCU.

La IA del aumento de blastos no leucémicos fue del 26.1%, el cual ocurrió en una mediana de 101 días tras el TSCU (rango, 28-377 días). La distribución cronológica del aumento de blastos no leucémicos fue la siguiente: 2 casos en el día +28 (5%), 2 en el día +56 (5%), 25 en el día +100 (58%), 3 en el día +180 (7%), 6 en el día +365 (14%), y 5 casos en estudios de MO realizados en otros días post-TSCU entre los días +110 y +170 (11%) (Figura 1).

Figura 1. Distribución cronológica del aumento de células blásticas no leucémicas en MO tras el TSCU



Características biológicas del aumento de blastos no leucémicos

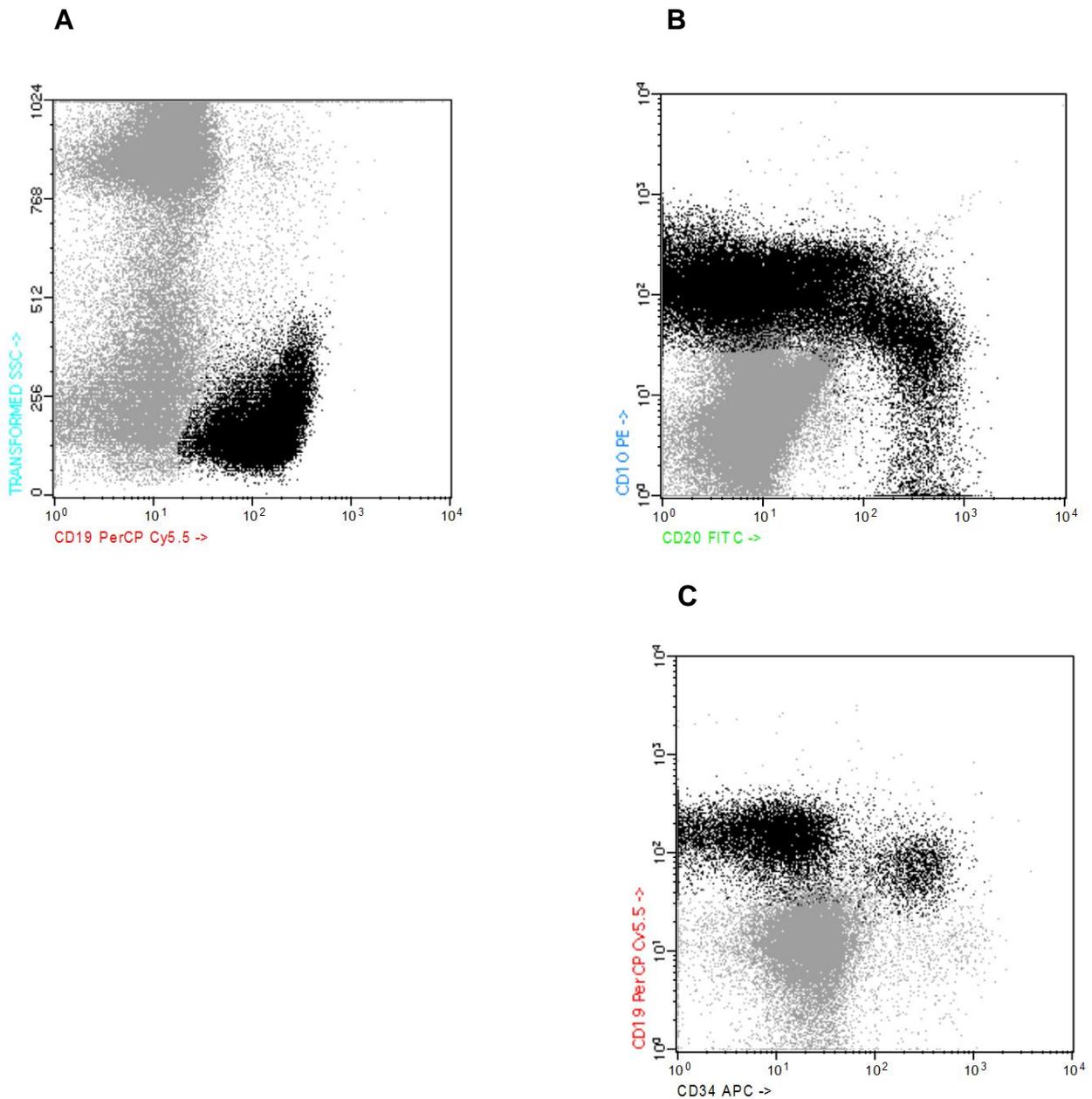
En los pacientes que presentaron un aumento de blastos no malignos tras el TSCU, la mediana del porcentaje de blastos en MO observado por citomorfología fue del 6% (rango, 5% -14%). En todos los casos, los 43, el estudio de quimerismo hematopoyético mostró una quimera completa del donante (rango entre 98% y 100%) y el curso clínico descartó la existencia de una recaída leucémica en estos pacientes.

Los estudios de CFM se realizaron en 36 de los 43 pacientes (84%) con aumento de blastos no leucémicos. Estas células blásticas fueron caracterizadas como precursores linfoides B (o hematogonias) en 33 pacientes (91.6%), presentando un patrón de maduración linfoide normal (Figura 2), como precursores mieloides no malignos en 2 pacientes (5.5%) y en 1 paciente (2.7%) se detectó un aumento de células linfoides T inmaduras. En dichas muestras, la mediana del porcentaje de precursores linfoides B más inmaduros (CD34⁺/CD19⁺, estadio 1 de maduración, Tabla 1) detectada por CFM fue de 2.7% (rango, 0-9%) y la mediana de linfocitos B maduros de 16.8% (rango, 0-53.8%).

Diagnóstico diferencial del aumento de blastos no leucémicos

Entre los días +28 y +365 post-TSCU, 19 pacientes con $\geq 5\%$ de blastos en MO detectados por citomorfología fueron diagnosticados de recaída leucémica con una mediana de porcentaje de blastos malignos del 50% (rango, 5%-100%). Estas recaídas correspondieron a LLA en 13 casos y a LMA en 6 casos. Otro paciente en el que se detectó un 6% de blastos en MO en el día +174 fue diagnosticado de síndrome linfoproliferativo post-trasplante asociado al virus de Epstein-Barr con infiltración de MO.

Figura 2. Ejemplo del aumento de precursores linfoides B en MO tras TSCU con un patrón de maduración normal en el estudio inmunofenotípico. El análisis de la población celular CD19⁺ en MO (A) muestra un aumento de la población celular CD10⁺ y de células-B más maduras CD10⁻/CD20⁺ (B). El porcentaje de células CD34⁺/CD19⁺ (precursores linfoides B más inmaduros) en MO se encuentra anormalmente elevado (7.37%) (C).



Factores pronósticos para el aumento de blastos no leucémicos tras el TSCU

La detección de un aumento de blastos no leucémicos fue mayor en los pacientes que no desarrollaron EICH aguda ($P < 0.001$), en aquellos a los que se les infundió un número de linfocitos $> 1.5 \times 10^8/\text{kg}$ ($P < 0.007$) y un número de células $\text{CD8}^+ > 0.2 \times 10^8/\text{kg}$ ($P = 0.01$), cuyo régimen de acondicionamiento incluyó ATG de conejo ($P = 0.01$), y a los que se les infundió un número de células $\text{CD3}^+ > 0.6 \times 10^8/\text{kg}$ ($P = 0.02$). También se detectó una tendencia a un aumento de blastos no leucémicos en aquellos pacientes con una enfermedad de base al trasplante en fase precoz ($P = 0.07$) y en aquellos con un número de células CD19^+ infundidas $> 0.2 \times 10^8/\text{kg}$ ($P = 0.09$) (Tabla 2).

El análisis multivariante identificó la ausencia de EICH aguda (hazard ratio [HR], 2.17%; 95% intervalo de confianza [IC], 1.10 – 4.26; $P = 0.025$) como el único factor independiente asociado al aumento de blastos no leucémicos tras el TSCU (Tabla 2). Las curvas de IA del aumento de blastos no leucémicos en función del desarrollo o no de EICH aguda y del número de linfocitos infundidos se muestran en las Figuras 3A y 3B.

Influencia del aumento de blastos no leucémicos en los resultados post-TSCU

En los pacientes en los que se realizó un seguimiento de 1 año tras el TSCU ($N = 88$), la SG, SLE, MNR, y RR a 3 años no mostraron diferencias significativas entre aquellos que desarrollaron (78%, 75%, 9%, y 18%, respectivamente) y los que no desarrollaron un aumento de blastos no leucémicos durante el primer año (78%, 75%, 19%, y 7%, respectivamente; $P = 0.86$, $P = 0.87$, $P = 0.24$, y $P = 0.51$, respectivamente). La incidencia de EICH crónica fue menor en los pacientes con un aumento de blastos no leucémicos en comparación con aquellos que no presentaron dicho aumento (35% vs. 72%, $P = 0.003$).

Figura 3. Curvas de incidencia acumulada del aumento de blastos no leucémicos en MO tras TSCU. A. IA en pacientes con y sin EICH aguda. B. IA según el número de linfocitos infundidos.

Figura 3A

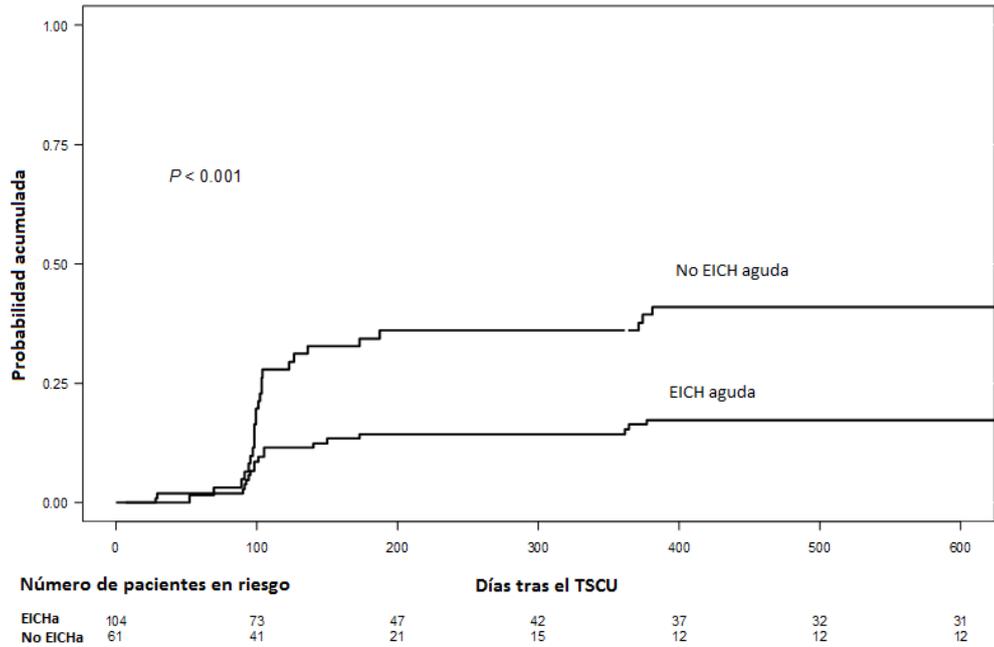
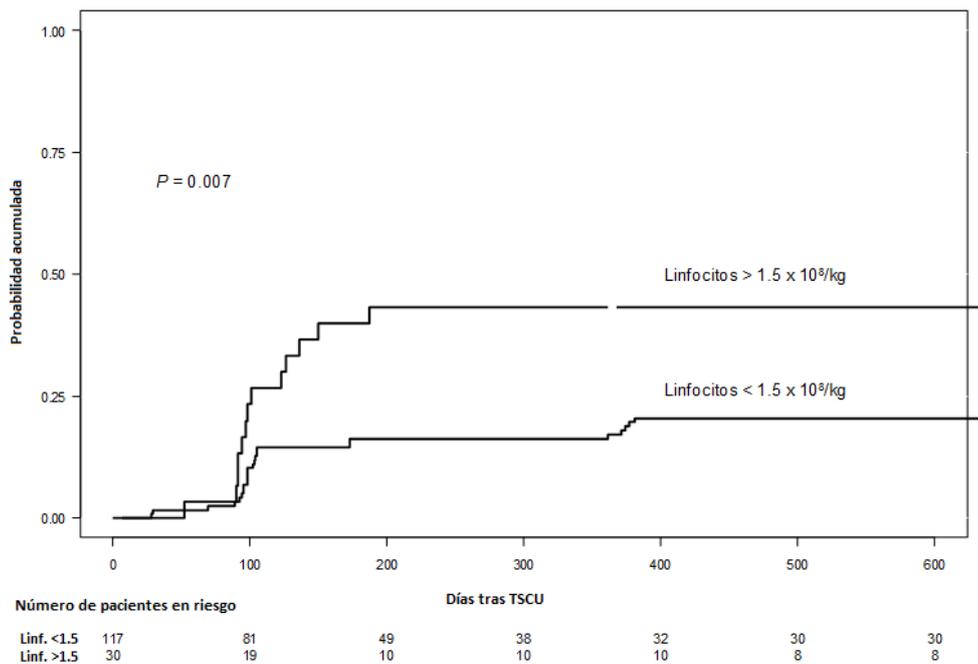


Figura 3B



DISCUSIÓN

Este estudio muestra que tras el TSCU de pacientes adultos es frecuente encontrar un aumento de células de hábito blástico no leucémicas en MO. Mediante el estudio con CFM hemos demostrado que estos blastos no leucémicos se corresponden con una expansión de precursores linfoides B en todos los estadios madurativos. Este aumento de células blásticas en MO ocurre predominantemente a partir del día +100 del TSCU aunque puede darse también en otros momentos durante el primer año post-trasplante. El aumento de blastos no leucémicos en MO se asoció con una baja incidencia de EICH y con la infusión de un número elevado de linfocitos contenidos en la unidad de SCU.

En los trabajos de Shono *et al.*² y Mattei *et al.*³ se describen dos casos clínicos de pacientes adultos sometidos a TSCU en los que se observa un aumento en MO de células de hábito blástico de hasta un 30%³ que se corresponden con precursores linfoides B al realizar el estudio inmunofenotípico. El trabajo de McKenna *et al.*⁴ es el trabajo publicado sobre este tema que incluye un mayor número de pacientes. En él se describe que el 17.7% de 79 pacientes (adultos y pediátricos) sometidos a TSCU presentan un aumento de células blásticas no leucémicas en MO por citomorfología, pero no caracteriza dichas células por CFM (solo en un paciente). Nuestro trabajo, demuestra como el de McKenna *et al.*⁴ que el aumento en MO de blastos no leucémicos es un fenómeno frecuente tras el TSCU (IA a 1 año del 26.1%), pero a diferencia de los anteriores estudios, incluye un número mayor de pacientes adultos y realiza un estudio inmunofenotípico de la mayoría de las muestras con un aumento de blastos por citomorfología. Además, estudia probables factores relacionados con este aumento de blastos no leucémicos y si este incremento de blastos es más frecuente en algún periodo del post-trasplante.

Aunque en el 58% de los pacientes con aumento de blastos no leucémicos se detecta dicho aumento en el día +100 del TSCU, tenemos que tener en cuenta que el incremento de precursores linfoides B en MO tras el TSCU es un fenómeno dinámico y, por tanto, el disponer solo de muestras de MO en días puntuales no es el mejor método para evaluar en qué momento del post-TSCU es más frecuente este fenómeno.

En el 91.6% de los pacientes con aumento de blastos no leucémicos que se estudiaron por CFM se detectó que estos blastos correspondían a precursores linfoides B (también

llamados hematogonias). Se sabe que las hematogonias (HG) están presentes en la MO de adultos y niños sanos en un porcentaje variable, aunque, en estos últimos suelen hallarse en un mayor porcentaje que en los adultos.²⁰⁻²² Además, se ha observado un aumento de estos precursores linfoides B en pacientes con enfermedades autoinmunes, neoplasias e infecciones víricas,^{23,24} así como en la MO de pacientes que habían recibido quimioterapia o TPH recientemente.^{25,26} Nuestro trabajo demuestra que tras el TSCU es frecuente observar un aumento de precursores linfoides B inmaduros (CD34⁺/CD19⁺) en MO y que este fenómeno parece relacionarse con la cantidad de linfocitos presentes en la unidad de SCU infundida. Aunque se desconoce porqué se produce este aumento de HG tras el TSCU, consideramos que éste podría estar relacionado con el elevado número de precursores linfoides B que posee la SCU y la mayor capacidad de proliferación y expansión de dichos precursores en relación con otras fuentes de progenitores hematopoyéticos.²⁷⁻³²

Este es el primer trabajo que relaciona el aumento de precursores linfoides B en MO tras el TSCU con menores tasas de EICH. Aunque el porqué de esta asociación todavía se desconoce, una hipótesis podría ser que la existencia de un número mayor de células linfoides B tras el TSCU podría mejorar la tolerancia inmunológica disminuyendo así la incidencia de EICH.

Finalmente, ante un aumento de blastos en MO tras el TSCU es importante realizar un correcto diagnóstico diferencial con una recidiva leucémica o con un síndrome linfoproliferativo post-trasplante, ya que las hematogonias poseen unas características citomorfológicas muy similares a las células blásticas de la leucemia aguda, sobretodo de la LLA. Para ello, se debe realizar un estudio inmunofenotípico que caracterice las poblaciones celulares y un estudio de quimerismo hematopoyético.

CONCLUSIONES

En pacientes adultos sometidos a TSCU es frecuente observar un aumento de células blásticas en el estudio morfológico de la MO post-injerto. Sin embargo, en la mayoría de los casos estos blastos corresponden a precursores linfoides B que deben ser distinguidos de los blastos leucémicos mediante el análisis inmunofenotípico. Nuestro

trabajo sugiere que el aumento de precursores linfoides B en MO se relaciona con una baja incidencia de EICH aguda y crónica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carreras E, Rovira M, Martínez C: Manual de Trasplante Hemopoyético, 4ª Edición 2010.
2. Shono Y, Toubai T, Ota S, et al. Abnormal expansion of naive B lymphocytes after unrelated cord blood transplantation--a case report. Clin Lab Haematol 2006;28:351-354.
3. Mattei D, Bassan R, Mordini N, et al. Expansion of B cell precursors after unrelated cord blood transplantation for an adult patient. Bone marrow transplantation 2007;40:283-285.
4. McKenna DH, Rupp C, Wagner J, et al. Increased lymphoblast-like cells following umbilical cord blood stem cell transplantation do not predict recurrent acute leukemia. Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, UK 2002;16:2171-2172.
5. Shima, T; Miyamoto, T; Kikushige, Y, et al. Predominant Reconstitution of B Lymphoid Precursors (Hematogones) Following Unrelated Cord Blood Stem Cell Transplantation. 50th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Bood. 2008;112: 767-767.
6. Shima, T; Miyamoto, T; Kikushige, Y, et al. Predominant reconstitution of B lymphoid precursors (hematogones) following unrelated cord blood stem cell transplantation is associated with less occurrence of acute graft-versus-host disease and superior overall survival. 50th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Bood. 2009;114: 879-879.
7. McKenna RW, Asplund SL, Kroft SH,. Immunophenotypic analysis of hematogones (B-lymphocyte precursors) and neoplastic lymphoblasts by 4-color flow cytometry. Leuk Lymphoma. 2004;45:277-285.

8. Weir EG, Cowan K, LeBeau P, Borowitz MJ. A limited antibody panel can distinguish B-precursor acute lymphoblastic leukemia from normal B precursors with for color flow cytometry: implications for residual disease detection. *Leukemia*. 1999;13:558-567.
9. Sanz GF, Saavedra S, Planelles D, et al. Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematologic malignancies. *Blood*. 2001;98:2332–2338.
10. Sanz J, Sanz MA, Saavedra S, Lorenzo I, Montesinos P, Senent L, Planelles D, Larrea L, Martín G, Palau J, Jarque I, Martínez J, de la Rubia J, Moscardó F, Romero M, Luna I, Montava A, Cañabate S, Sanz GF. Cord blood transplantation from unrelated donors in adults with high-risk acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010 Jan;16(1):86-94.
11. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995;15:825–828.
12. 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;69:204–217.
13. McKenna RW, Washington LT, Aquino DB, Picker LJ, Kroft SH. Immunophenotypic analysis of hematogones (B-lymphocyte precursors) in 662 consecutive bone marrow specimens by 4-color flow cytometry. *Blood* 2001;98:2498-2507.
14. Sevilla DW, Colovai AI et al. Hematogones: a review and update. *Leuk and Lymph*. 2010;51:10-19.
15. Gray RJ. A class of K-sample test for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *Ann Stat*. 1988;16:1141–1154.
16. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*. 1958;53:457–481.
17. Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep*. 1966;50:163–170.

18. Fine J, Gray R: A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *J Am Stat Assoc* 1999;94:496-509.
19. Dixon WJ. *BMDP Statistical Software*. Berkeley, CA: University of California Press, 1990.
20. Cadwell CW, Poje E, Helikson MA. B-cell precursors in normal cel pediatric bone marrow. *Am J Clin Pathol*. 1991;95:816-823.
21. Lucio P, Parreira A, van der Beemd MW, et al. Flow cytometric analysis of normal B cell differentiation:a frame of reference for the detection of minimal residual disease in precursor B-ALL. *Leukemia*. 1999;13:419-427.
22. Rego EM, Garcia AB, Viana SR, Falcao RP. Age-related changes of lymphocytes subsets in normal bone marrow biopsies. *Cytometry*. 1998;34:22-29.
23. Muehleck SD, McKenna RW, Gale PF, Brunning RD. Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-positive cells in bone marrow in the absense of hematologic malignancy. *Am J CLin Pathol*. 1983;79:277-284.
24. Sandhaus LM, Chen TL, Ettinger LJ, Hirst-Allen A, Mehta K, Raskova J. Significance of increased proportion of CD10-positive cells in nonmalignant bone marrow of children. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1993;15:65-70.
25. Borella L, Green AA, Webster RG. Immunologic rebound after cessation of long-term chemotherapy in acute leukemia. *Blood*. 1972;40:42-51.
26. Kobayashi SD, Selki K, Suwa N, et al. The transient appearance of small blastoid cells in the marrow after bone marrow transplantation. *Am J Clin Pathol*. 1991;96:191-195.
27. Mayani H, Gutierrez-Rodriguez M, Espinoza L et al. Kinetics of hematopoiesis in Dexter-type long-term cultures established from human umbilical cord blood cells. *STEM CELLS*. 1998; 16: 127-135.
28. Montley D, Meyer MP, King RA, Naus GJ. Determination of lymphocytes immunophenotypic values for normal full-term cord blood. *Am J Clin Pathol*. 1996;105:38-43.

29. Arakawa-Hoyt J, Dao MA, Thiemann F, Hao QL, Ertl DC, Weinberg KI et al. The number and generative capacity of human B lymphocyte progenitors, measured *in vitro* and *in vivo*, is higher in umbilical cord blood than in adult or pediatric bone marrow. *Bone Marrow Transplant*. 1999;24:1167-1176.
30. Hows JM, Bradley BA, Marsh JCW et al. Growth of human umbilical cord blood in longterm haematopoietic cultures. *Lancet*. 1992;340:73-76.
31. Lansdorp PM, Dragowska W, Mayani H. Ontogeny-related changes in proliferative potential of human hematopoietic cells. *J Exp Med*. 1993;178:787-791.
32. Van de Ven C, Ishizawa L, Law P, Cairo MS. IL-11 in combination with SLF and G-CSF or GM-CSF significantly increases expansion of isolated CD34 cell population from cord blood vs. adult bone marrow. *Exp Hematol*. 1995;23:1289-1295.

Tabla 2. Incidencia acumulada (IA) del aumento de blastos no leucémicos según las características de los pacientes y las características del trasplante (análisis univariante y multivariante)

| Característica | Número total de pacientes | Pacientes con aumento de blastos no leucémicos | IA en 1 año | Valor <i>P</i> análisis univariante | Análisis multivariante | Valor <i>P</i> análisis multivariante |
|--------------------|---------------------------|--|-------------|-------------------------------------|---|---------------------------------------|
| | N (%) | N (%) | % | | Hazard ratio (intervalo de confianza 95%) | |
| Total | 165 (100) | 43 (100) | 26.1 | | | |
| Edad (años) | | | | | | |
| < 30 | 72 (44) | 22 (51) | 30.7 | 0.26 | | NI |
| ≥ 30 | 93 (56) | 21 (49) | 22.6 | | | |
| Sexo | | | | | | |
| Hombres | 100 (61) | 22 (51) | 22.1 | 0.17 | | NI |
| Mujeres | 95 (39) | 21 (49) | 32.3 | | | |
| TPH previo | | | | | | |
| No | 142 (86) | 37 (86) | 26.1 | 0.98 | | NI |
| Si | 23 (14) | 6 (14) | 26.1 | | | |
| Diagnóstico | | | | | | |
| LLA | 58 (35) | 14 (32) | 24.1 | 0.36 | | NI |
| LMA | 59 (36) | 18 (42) | 30.7 | | | |

| | | | | | | |
|---------------------------------|----------|---------|------|-------|------------------|------|
| LMC | 21 (13) | 2 (5) | 9.5 | | | |
| Síndrome linfoproliferativo | 13 (8) | 4 (9) | 30.8 | | | |
| SMD y/o SMPC | 14 (8) | 5 (12) | 35.7 | | | |
| Fase de la enfermedad al | | | | | | |
| TSCU | | | | | | |
| Precoz | 110 (67) | 34 (79) | 31.6 | 0.07 | | NI |
| Avanzada | 54 (33) | 9 (21) | 17.0 | | | |
| Compatibilidad HLA | | | | | | |
| 6/6 | 10 (6) | 3 (7) | 30.0 | 0.69 | | NI |
| 5/6 | 46 (28) | 10 (23) | 21.7 | | | |
| 4/6 | 109 (66) | 30 (70) | 27.5 | | | |
| Régimen de | | | | | | |
| acondicionamiento | | | | | | |
| BUCI-TT-Linfoglobulina | 27 (16) | 1 (2) | 3.7 | 0.012 | 1.23 (0.76-1.98) | 0.40 |
| BUCI-TT-Timoglobulina | 31 (19) | 11 (26) | 35.5 | | | |
| BUFLU-TT-Timoglobulina | 107 (65) | 31 (72) | 29.0 | | | |
| Incompatibilidad ABO | | | | | | |
| No o menor | 125 (76) | 31 (72) | 24.2 | 0.47 | | NI |
| Mayor | 40 (24) | 12 (28) | 30.0 | | | |

Serología CMV del receptor

| | | | | | | |
|----------|----------|---------|------|------|--|----|
| Negativa | 35 (21) | 8 (19) | 23.8 | 0.55 | | NI |
| Positiva | 130 (79) | 35 (81) | 26.9 | | | |

Células CD34+ criopreservadas x10⁵/kg

| | | | | | | |
|-------|---------|---------|------|------|--|----|
| ≤ 1.5 | 73 (44) | 20 (46) | 30.1 | 0.56 | | NI |
| > 1.5 | 92 (56) | 23 (54) | 25.0 | | | |

Linfocitos infundidos x10⁸/kg

| | | | | | | |
|-------|----------|---------|------|-------|------------------|------|
| ≤ 1.5 | 117 (80) | 24 (65) | 20.5 | 0.007 | 1.52 (0.69-3.37) | 0.30 |
| > 1.5 | 30 (20) | 13 (35) | 43.3 | | | |

Células CD3+ infundidas x10⁸/kg

| | | | | | | |
|-------|---------|---------|------|-------|------------------|------|
| ≤ 0.6 | 74 (51) | 13 (35) | 17.6 | 0.025 | 0.99 (0.41-2.41) | 0.99 |
| > 0.6 | 70 (49) | 24 (65) | 34.3 | | | |

Células CD8+ infundidas x10⁸/kg

| | | | | | | |
|-------|---------|---------|------|------|------------------|------|
| ≤ 0.2 | 92 (64) | 17 (46) | 18.5 | 0.01 | 1.72 (0.76-3.87) | 0.19 |
| > 0.2 | 52 (36) | 20 (54) | 38.5 | | | |

Células CD19+ infundidas**x10⁸/kg**

| | | | | | | |
|-------|---------|---------|------|------|--|----|
| ≤ 0.2 | 83 (58) | 17 (47) | 20.5 | 0.09 | | NI |
| > 0.2 | 60 (42) | 19 (53) | 31.7 | | | |

Profilaxis EICH

| | | | | | | |
|------------------|----------|---------|------|------|--|--|
| CsA/prednisona | 111 (67) | 25 (58) | 22.7 | 0.12 | | |
| CsA/micofenolato | 54 (33) | 18 (42) | 33.3 | | | |

EICH aguda

| | | | | | | |
|-----------|---------|---------|------|--------|------------------|-------|
| Grado 0 | 61 (37) | 25 (58) | 40.9 | <0.001 | 2.17 (1.10-4.26) | 0.025 |
| Grado 1-2 | 70 (42) | 13 (30) | 18.7 | | | |
| Grado 3-4 | 34 (21) | 5 (12) | 14.7 | | | |

Abreviaciones: LLA, Leucemia linfoblástica aguda; LMA, Leucemia mieloide aguda; LMC, Leucemia mieloide crónica; SMD y/o SMPC, Síndrome mielodisplásico y/o síndrome mieloproliferativo crónico; CMV, citomegalovirus; EICH, enfermedad de injerto contra huésped; CsA, ciclosporina A; TSCU, trasplante de sangre de cordón umbilical; BU, busulfán; FLU, fludarabina; TT, tiotepa; CI, ciclofosfamida; NI, no incluido en el análisis multivariante.

