



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISION DE POSGRADO E INVESTIGACION
SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA**

TESIS:

**“EFECTIVIDAD Y SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES PEDIATRICOS CON LEUCEMIAS AGUDAS
SOMETIDOS A TRASPLANTE HAPLOIDENTICO CON DEPLECION IN VIVO EN EL INSTITUTO
NACIONAL DE PEDIATRIA “**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ALTA ESPECIALIDAD EN:
TRASPLANTE DE CELULAS HEMATOPOYETICAS EN PEDIATRIA**

P R E S E N T A:

Dra. Cynthia Shanat Cruz Medina

TUTOR DE TESIS

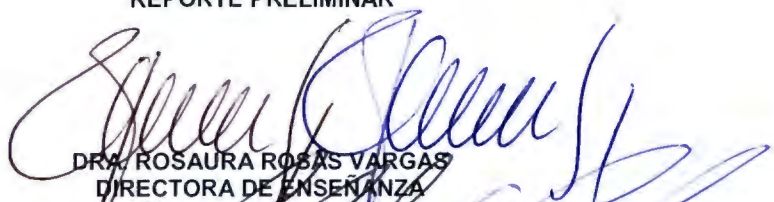
Dr. Alberto Olaya Vargas

México, D.F.

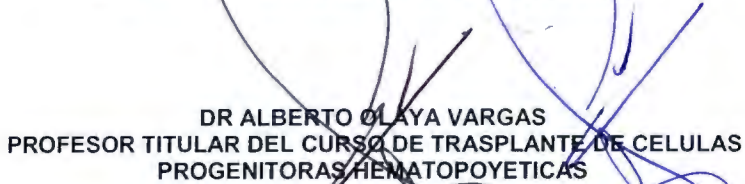
2014

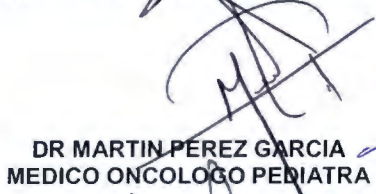


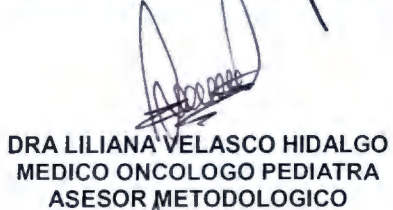
EFFECTIVIDAD Y SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES PEDIATRICOS
CON LEUCEMIAS AGUDAS SOMETIDOS A TRASPLANTE
HAPLOIDENTICO CON DEPLECION IN VIVO EN EL INSTITUTO
NACIONAL DE PEDIATRIA
REPORTE PRELIMINAR

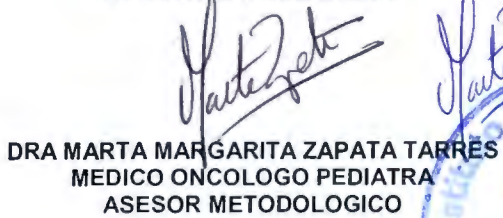

DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA


DR. LUIS MARTIN GARRIDO GARCIA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO


DR ALBERTO OLAYA VARGAS
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE TRASPLANTE DE CELULAS
PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS


DR MARTIN PEREZ GARCIA
MEDICO ONCOLOGO PEDIATRA


DRA LILIANA VELASCO HIDALGO
MEDICO ONCOLOGO PEDIATRA
ASESOR METODOLOGICO


DRA MARTA MARGARITA ZAPATA TARRÉS
MEDICO ONCOLOGO PEDIATRA
ASESOR METODOLOGICO



**EFFECTIVIDAD Y SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES PEDIATRICOS CON LEUCEMIAS AGUDAS
SOMETIDOS A TRASPLANTE HAPLOIDENTICO CON DEPLECION IN VIVO EN EL INSTITUTO
NACIONAL DE PEDIATRIA**

REPORTE PRELIMINAR

TUTOR:

Dr. Alberto Olaya Vargas
Jefe del Servicio de Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas
Oncólogo Pediatra. Servicio de Oncología.

Dr. Martin Pérez García
Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas
Oncólogo Pediatra. Servicio de Oncología

ASESORES METODOLOGICOS:

Dra. Liliana Velasco Hidalgo
Oncólogo Pediatra
Adscrito al Servicio de Oncología

Dra. Marta Zapata Tarrés
Oncólogo Pediatra
Adscrito al Servicio de Oncología

ALUMNO:

Dra. Cynthia Shanat Cruz Medina
Residente de Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas
Oncólogo Pediatra

INDICE

Antecedentes	3
Método de depleción	6
Planteamiento del problema	8
Pregunta de investigación	9
Clasificación de investigación	10
VARIABLES	11
Fases del trasplante	12
Toxicidad	13
Recursos	15
Cálculo de la muestra	16
Análisis estadístico	17
Resultados	18
Conclusiones	22
Bibliografía	23

EFFECTIVIDAD Y SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIAS AGUDAS SOMETIDOS A TRASPLANTE HAPLOIDENTICO CON DEPLECIÓN IN VIVO EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

ANTECEDENTES

La leucemia aguda es la neoplasia más común en la infancia, representa el 27% de las neoplasias malignas en la infancia, de las cuales la leucemia linfoblástica aguda (LAL) involucra el 75%.¹ La etiología aún se desconoce, el pico de incidencia es entre los 2 y los 5 años de edad, tiene mayor incidencia en varones, hay factores ambientales, genéticos, infecciosos, inmunológicos asociados a su patogénesis, su tratamiento es a base de quimioterapia, con lo que se ha logrado una supervivencia a 5 años mayor al 80% en estos pacientes.²

Existen diferencias geográficas en la frecuencia y distribución. Esta variación geográfica quizá refleje en parte las diferencias inmunológicas y citogenéticas; parece haber una menor incidencia de precursores B en países en desarrollo y una alta incidencia de LAL T en países industrializados.³ La opción terapéutica de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) en LAL en primera remisión se considera en caso de contar con factores de mal pronóstico, tales como: las traslocaciones t(9:22), t(4:1), mala respuesta a la inducción, enfermedad mínima residual positiva al término de la inducción. En las últimas décadas se ha modificado la definición de alto riesgo en niños con LAL por lo que diferentes grupos corporativos han reportado curación de 30 a 60% de los pacientes en este grupo de riesgo, después de obtener la primera remisión completa existe un riesgo alto de recaída posterior a los regímenes de quimioterapia multiagente. Múltiples estudios retrospectivos han mostrado que el trasplante de donador emparentado 100% compatible mejora el pronóstico de pacientes con LAL de alto riesgo en primera remisión comparado con los protocolos con intensificación de quimioterapia. Por lo que se requiere estrategias de tratamiento alternativas como trasplante alogénico para prevenir recaída de la enfermedad.^{4 5}

En el estudio de Balduzzi et al publicado en 2005, se incluyeron 357 niños con diagnóstico de LAL de alto riesgo, de los cuales 280 recibieron únicamente quimioterapia, 77 pacientes recibieron quimioterapia y trasplante de donador relacionado, se observó que la SLE a 5 años fue de 40% en el grupo que solo se trató con quimioterapia y 56.7% en los que recibieron además trasplante (p 0.02), el estudio concluye que es benéfico realizar trasplante en este tipo de pacientes⁶ Para los pacientes con recaída temprana a médula ósea la sobrevida con tratamiento exclusivo con quimioterapia e menor del 20%, alcanzando una sobrevida hasta del 40% posterior al TCPH.

Las Leucemias Mieloides Agudas (LMA) se presentan 4 a 7 casos/millón/año en menores de 15 años. Son el 15 a 20% de las leucemias en menores de 15 años. El mayor pico de incidencia es al año de edad. Es más común en hispanos.

Con el advenimiento en tratamiento de las LMA se ha logrado inducción a la remisión hasta un 80%. Sin embargo la sobrevida libre de evento a largo plazo continua entre 50 a 60%. El TCPH en primera remisión disminuye el riesgo de recaída hasta 10 a 25% con donador relacionado compatible. En pacientes con LMA de bajo riesgo el riesgo de recaída es bajo, comparado con los pacientes de riesgo intermedio en quienes el riesgo de recaída es de 40 a 50% y los pacientes de

alto riesgo de 80% para quienes el TCPH en primera remisión continua siendo una herramienta esencial en el tratamiento. ⁴ Aproximadamente 75% de los pacientes que requieren un TCPH carece de un hermano HLA idéntico disponible para trasplante.

Para un caucásico la probabilidad de encontrar un donador HLA idéntico no relacionado es de 50-60% y este porcentaje es menor para otros grupos étnicos; el tiempo desde que inicia la búsqueda de donador hasta que se realiza el trasplante es aproximadamente de cuatro meses.⁶ Los pacientes que no cuentan con un donador HLA idéntico deberán recurrir a un donador alternativo, que puede ser sangre de una o dos unidades de cordón umbilical o un familiar con HLA no idéntico, que tenga dos o más antígenos diferentes e incluso, con un solo haplotipo idéntico; es decir un trasplante de células hematopoyéticas Haploidéntico (TH).⁵⁻⁷

Los primeros informes de TH se publicaron a finales del decenio de 1970, con resultados desalentadores debido, principalmente a falla primaria de injerto hasta 30%, enfermedad injerto contra huésped (EICH) hasta 80% y alta mortalidad no asociada con recaída.¹⁹ Después de conocer estos resultados los siguientes estudios clínicos de TH se enfocaron a buscar métodos para manipular el injerto y disminuir la cantidad de células T trasplantadas, aumentar la inmunosupresión y modificar los esquemas de acondicionamiento.⁸⁻²³

En Italia, Aversa y sus colaboradores utilizaron la selección positiva de células CD34+ con lo que lograron disminuir el número de fallas primarias de injerto al administrar dosis mayores de 10×10^6 de células CD34/kg de peso (mega dosis) con la intención de superar la barrera de la incompatibilidad en el HLA. Con este método disminuyó también la incidencia de EICH debido a que al realizar la selección positiva de células CD34+ logran disminuir la cantidad de células T hasta en 3 logaritmos. A pesar del avance logrado por este grupo, la mortalidad relacionada con el trasplante sigue siendo alta (40%) debido al esquema mieloablatoivo y a la aparición de infecciones oportunistas secundarias al retraso en la recuperación inmunológica y a la disminución de células NK en el injerto.

En Alemania, Bethge y su grupo utilizaron como estrategia un régimen de acondicionamiento de intensidad reducida y disminución selectiva de células CD3 y CD 19 a través de la manipulación del injerto con perlas inmunomagnéticas. Con este procedimiento disminuyó la mortalidad relacionada con el trasplante a 20%, y se demostró que no es indispensable la dosis elevada de células CD 34+ ni un esquema mieloablatoivo para lograr el injerto. El EICH se presentó en 48% de los pacientes, la supervivencia global (SG) fue de 35% a un año como consecuencia del número de recaídas y el retraso en la recuperación inmunológica.

En un estudio multicéntrico de Estados Unidos publicado en 2011, en que se incluyeron 210 pacientes con diversas enfermedades hematológicas, se utilizó el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas haploidéntico con depleción in vivo (THDV), con régimen de acondicionamiento no mieloablatoivo, con fludarabina 30mg/m², ciclofosfamida 14.5mg/kg, radioterapia corporal total 200cGy y posterior al trasplante se administró ciclofosfamida 50mg/kg en dos dosis, se inició profilaxis para EICH al 5º día con micofenolato y tacrolimus. La SG a 3 años fue de 41%, la Supervivencia Libre de Enfermedad (SLE) a 3 años fue de 32%. La SG para los pacientes con Linfoma Hodgkin 62%, LLA fue de 50%, para síndrome mielodisplásico de 45%, Linfoma No Hodgkin de 41%, LMA de 35%. Fallecieron 55% de los pacientes; 37.5% por recaída, 7% por infecciones, 3.3% por complicaciones pulmonares, 0.3% por EICH, el resto por causas no especificadas.⁹

En China Huang y sus colaboradores utilizaron un esquema mieloablatoivo, con una combinación de células hematopoyéticas de médula ósea y sangre periférica, previa estimulación con FEC-G, sin manipulación del injerto y con inmunosupresión intensa. Con este esquema, la mortalidad relacionada con el trasplante fue 13%, la presentación de EICH 48% y recaída a tres años de 20%, el estudio obtuvo uno de los mejores resultados en SLE. También se ha indicado alemtuzumab, anticuerpo monoclonal anti-CD52, para disminuir las células T in vivo y el EICH.⁷⁻¹¹

En Australia, Bilmon y colaboradores realizaron un estudio, en adultos, en el cual se sometieron 12 pacientes, de 2008 a 2010, 9 con diagnósticos de LMA, 2 con Linfoma folicular, 1 con LMC. El régimen de acondicionamiento a base de fludarabina 30mg/m², ciclofosfamida 14.5mg/kg, radioterapia corporal total 200cGy y posterior al trasplante se administró ciclofosfamida 50mg/kg en dos dosis, se inició profilaxis para EICH al 5º día con micofenolato y tacrolimus. SG 50% a un año, fallecieron 5 pacientes con diagnóstico de LMA correspondiente al 42%, 17% fallecieron por segundas neoplasias, 17% tuvieron falla primaria al injerto.¹⁵

Las ventajas de optar por un TH incluyen la posibilidad de escoger entre varios candidatos, evitar pérdida de tiempo en búsquedas, disponibilidad posterior al trasplante en caso de falla del injerto o, posteriormente si es necesario terapia celular. Prácticamente todos los pacientes tienen un donador haploidéntico que puede ser madre, padre, hijo, hermano o medio hermano.

El lugar del TH dentro de los lineamientos internacionales para el tratamiento de las enfermedades hematológicas no está claro. Sabemos que el mejor donador para un paciente que requiere un TCPH es un hermano HLA idéntico, sin embargo, con los esquemas actuales de TH los resultados indican que a mayor disparidad de antígenos HLA mayor SLE, por lo que es probable que además de ser una opción para pacientes que no cuentan con donador HLA idéntico, lo sea para el grupo de pacientes con enfermedades resistentes

En nuestro país contamos con un número no suficiente de donadores no emparentados registrados como donadores voluntarios y un número también reducido de unidades de sangre de cordón almacenados en los diferentes bancos creados en nuestro país para estos fines, además en el caso de las unidades de sangre de cordón se tiene el inconveniente de que muchas de las unidades que pueden ser utilizadas no cuentan con una cifra suficiente de células CD34+ para lograr recuperaciones hematológicas tempranas especialmente en pacientes que pesen más de 30 kg.¹¹⁻¹²

En la última década, los resultados de los TH han mejorado de forma significativa. La investigación básica y clínica continúa avanzando en TH al determinar la importancia y la forma de manipular las células NK, los linfocitos Treg, la tolerancia feto-materna, los antígenos maternos no heredados, el ligando KIR, todos ellos decisivos en el reconocimiento del antígeno y la alo-reactividad adquirida durante el proceso de este tipo trasplantes.

El TH no sólo es una solución eficaz para más del 75% de pacientes que carecen de un donante HLA idénticos sino que constituye una plataforma ideal para las poblaciones celulares que se encuentran en el injerto, especialmente para las células NK. La incompatibilidad entre los receptores inhibitorios Ig-like de las células NK (KIR) del donante con sus ligandos, HLA-clase I en el paciente determina un potente efecto antitumoral conocido como KIR mismatch que ha demostrado ser curativo en pacientes con enfermedades hematológicas malignas de muy alto riesgo y tumores sólidos refractarios ó metastásicos.

BASES CELULARES DE LA ENFERMEDAD REFRACTARIA

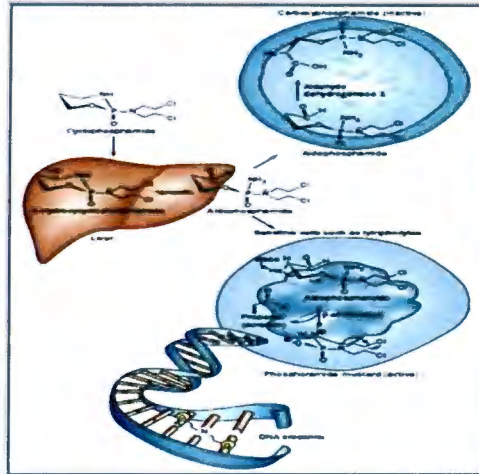
La inmunotolerancia es el primer mecanismo conocido de evasión por parte del cáncer al sistema inmunológico, consiste en la disminución de la expresión de moléculas MHC clase I por parte del tumor mediante mutaciones y deleciones en el gen que codifica la beta2-microglobulina de las moléculas de clase I. Esta estrategia aunque resulta eficaz para escapar del reconocimiento inmune mediado por células presentadoras de antígeno (APC) y linfocitos T CD8, estimula la activación de la respuesta innata mediante la activación de los receptores KIR de las células NK eliminando al tumor.¹⁶

La falta de estímulo de las células del sistema inmune del paciente desencadena una respuesta inmunológica de tolerancia y no efectora antitumoral. La falta de estímulo de las células inmunes del paciente está relacionada directamente con la capacidad del tumor de sobre expresar la vía de señalización STAT-3 y liberar en el microambiente tumoral citocinas reguladoras IL-10 y VEGF que impiden la estimulación y la maduración de las células dendríticas. Las células dendríticas inmaduras expresan bajos niveles de moléculas coestimuladoras, por tanto tienen escasa capacidad de estimular a las células NK y los linfocitos T CD8. Las células dendríticas inmaduras inducen Tregs y son eliminadas por las células NK. Estas circunstancias producen un estado en el paciente de inmunotolerancia con las células tumorales y por tanto progresión clínica de la enfermedad.²³

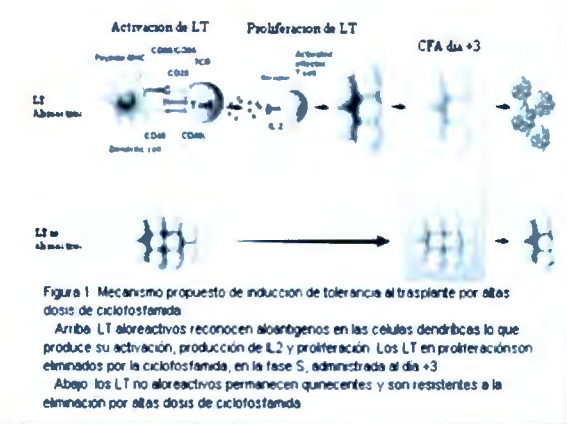
Las células NK son elementales en el sistema inmune innato, su función primordial es la defensa frente a infecciones y la formación de tumores. Posterior a la estimulación las células NK secretan gran cantidad de citocinas (IFN-g, TNF-a, GM-CSF), quemoquinas (CCL3, CCL4, CCL5) y son citotóxicas en las células diana mediante la inducción de apoptosis (vía FAS, perforina - granzyma).¹⁶ La identificación de las dianas de las células NK se realiza a través de dos tipos de receptores: los receptores inhibitorios (KIR) y los receptores activadores (NCR). Clásicamente, la activación de las células NK es controlada por el equilibrio dinámico entre KIR y NCR. La activación de las células NK a través de estos receptores con TLR1 aumenta la expresión en la superficie de moléculas estimuladoras (CD25 y CD69) y la secreción de IFN-g y TNF-a.¹²⁻¹³

METODO DE DEPLECION

La administración de ciclofosfamida posterior al trasplante (en la depleción in vivo) ha mostrado que la tolerancia inmunológica puede inducirse al administrar un antígeno seguido de un fármaco que elimine antígenos reactivos de células B/T.¹⁶ El mecanismo propuesto es la destrucción clonal de las células T alorreactivas; después de administrada la Ciclofosfamida se distribuye en el cuerpo, en el hígado se convierte en 4 hidroxíciclofosfamida y aldofosfamida, las cuales se encuentran en equilibrio. En las células que poseen altos niveles de aldehído dehidrogenasa 1 (como las células troncales) la aldofosfamida se convierte de forma irreversible en carboxifosfamida, la cual no se descomponen mostaza fosfamida y por ende carece de actividad alquilante y de citotoxicidad. En ausencia de concentraciones altas de aldehído dehidrogenasa (como en los linfocitos) la aldofosfamida libera espontáneamente mostaza fosfamida y acroleína, ejerciendo efecto alquilante bifuncional de la molécula de DNA formando entrecruzamientos en el sitio de la guanina y de forma secundaria citotoxicidad.



El estímulo antigénico del injerto causa proliferación rápida de las células T específicas para el antígeno externo. Cuando se administra la ciclofosfamida dentro de los 3 primeros días post trasplante (tiempo de la proliferación), inhibe la replicación del DNA generando destrucción selectiva de las células T alo reactivas maduras. La ciclofosfamida no elimina células T inactivas, esto incluye las células T de memoria, específicas. La ciclofosfamida administrada posterior al trasplante induce a la depleción selectiva del antígeno de las células infundidas.¹⁴⁻¹⁵



El método de depleción ex vivo de linfocitos es una técnica de separación inmunomagnética utilizando anticuerpos monoclonales marcados con micro esferas magnéticas dirigidos contra linfocitos específicos ó epítomos de células madre.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las Leucemias Agudas representan aproximadamente el 50% de todos los casos de cáncer en edad pediátrica. A pesar de un tratamiento multimodal, hasta en 20% de los casos los pacientes pueden presentar recaída o refractariedad de la enfermedad.

De los pacientes que se someten a TCPH solo 25% tiene un donador relacionado 100% compatible. Los pacientes que no cuentan con un donador HLA idéntico deben recurrir a un donador alternativo, que puede ser sangre de unidades de cordón umbilical (solo 25%). Más del 50% de los pacientes con indicación de trasplante no cuentan con una fuente de células progenitoras hematopoyéticas, por lo cual se han buscado nuevas fuentes de obtención de células progenitoras hematopoyéticas, una de ellas es a través del uso de células progenitoras hematopoyéticas de un familiar con HLA no idéntico que tenga dos o más antígenos diferentes e incluso, con un solo haplotipo idéntico es decir un TH.⁵⁻⁶

El Instituto Nacional de Pediatría es el principal centro de referencia nacional para la realización de Trasplante de Células Progenitoras hematopoyéticas para pacientes con enfermedades neoplásicas. Se reciben actualmente de manera anual aproximadamente 70 pacientes de los cuales el 60% no tendrán un donador compatible, por lo que el resto de estos pacientes requerirá de un trasplante haploidéntico. El conocer la efectividad y la supervivencia de este procedimiento permitirá implementar un tratamiento disponible para la mayoría de los pacientes, lo cual disminuirá tiempos de espera de trasplante así como los costos de este.

JUSTIFICACION

Las Leucemias agudas son la neoplasia más común de la infancia en nuestro país, el TCPH continúa siendo piedra angular en el tratamiento de las LMA y LAL de alto riesgo en primera remisión y herramienta indispensable en el tratamiento de ambas en segundas remisiones.

El Instituto Nacional de Pediatría (INP) es un centro de referencia nacional para el tratamiento con TCPH de las Leucemias Agudas. La media de trasplantes realizados al año en el INP es de 30 (22 a 40), de los cuales 74% corresponden a Leucemias Agudas, de estas; 54% correspondieron a fuente de sangre periférica donador relacionado, 12% fuente de sangre de cordón.

Debido a que solo un 25% de los pacientes con indicación de trasplante cuentan con un donador 100% compatible y otro 20 a 25% cuenta con células de fuente de cordón, el TH es una modalidad terapéutica útil en pacientes sin fuente de células progenitoras hematopoyéticas, sin embargo debido a los costos del kit de depleción selectiva in vitro que ascienden aproximadamente a \$ 350 mil pesos, se propone como una modalidad terapéutica el THDV que además de no generar el

costo extra del kit de selección, cuenta también con el beneficio de acortar los tiempos de espera para obtener una fuente de células progenitoras hematopoyéticas

PREGUNTAS DE INVESTIGACION

- ¿Cuál es la supervivencia global y libre de evento del Trasplante Haploidéntico con depleción in vivo, en los pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemias Agudas que se someten a este procedimiento en el INP en el periodo de septiembre de 2013 a septiembre de 2016?
- ¿Cuál es el tiempo de injerto mieloide en los pacientes tratados con Trasplante Haploidéntico con depleción in vivo, en los pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemias Agudas que se someten a este procedimiento en el INP en el periodo de septiembre de 2013 a septiembre de 2016?
- ¿Cuáles son las principales complicaciones de los pacientes tratados con Trasplante Haploidéntico con depleción in vivo, en los pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemias Agudas que se someten a este procedimiento en el INP en el periodo de septiembre de 2013 a septiembre de 2016?

HIPOTESIS

1.- El THDV tendrá una supervivencia global y libre de evento de los pacientes tratados con este método en el periodo de septiembre de 2013 a septiembre de 2016 del 40% y 60% respectivamente a 3 años.

2.- El tiempo de injerto mieloide de los pacientes tratados con THDV en el INP del periodo de septiembre de 2013 a septiembre de 2016 de 14 días.

3.- Las complicaciones que se presentaran en los pacientes que reciben THDV en el INP en el periodo de septiembre de 2013 a septiembre de 2016 serán: infecciones menos del 10%, EICH agudo 20- 40%, EICH crónico 40%, falla de injerto 13%, muerte 10%.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la supervivencia global y libre e evento, así como el tiempo de injerto mieloide y los eventos adversos más frecuentes del THDV en pacientes con leucemias agudas sometidos a este procedimiento, en el Instituto Nacional de Pediatría en el periodo de septiembre de 2013 a septiembre de 2016

CLASIFICACION DE LA INVESTIGACION

Se trata de un estudio prospectivo, quasi experimental

MATERIAL Y METODOS

POBLACION OBJETIVO

Pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemias Agudas sometidos a THDV atendidos en un Hospital de tercer nivel de atención

POBLACION ELEGIBLE

Pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemias Agudas sometidos a THDV atendidos en el servicio de Oncología del INP en el periodo comprendido de septiembre de 2013 a septiembre de 2016

CRITERIOS DE INCLUSION

- Pacientes menores de 18 años, atendidos en el INP
- Diagnóstico de LAL o LMA de muy alto riesgo en primera remisión
- Diagnóstico de LAL o LMA en segunda remisión independientemente del riesgo
- Pacientes con un Índice de Lansky > 60%.
- Pacientes con indicación de trasplante, sin donador relacionado compatible o fuente de cordón
- Biometría hemática con: neutrófilos totales mayores de 1000 células/uL, cuenta plaquetaria mayor de 100 000 células/uL, hemoglobina mayor de 10gr/dL
- Depuración de creatinina mayor de 50 ml/min
- Bilirrubinas totales menor de 1.50 mg/dL
- Concentración de ALT menor de 90UI/L, AST menor de 100 UI/L, GGT menor de 70 UI/L
- Ecocardiograma con FEVI mayor de 50% y FA mayor del 27%
- Firma de consentimiento y asentimiento informado

CRITERIOS DE EXCLUSION

- Pacientes con proceso infeccioso activo u otro estado médico subyacente grave.
- Pacientes con diagnóstico de Mielodisplasia que requiera trasplante
- Pacientes con diagnóstico de Tumor sólido que requiera trasplante
- Pacientes con diagnóstico de Inmunodeficiencia primaria que requiera trasplante

DEFINICION OPERACIONAL DE VARIABLES

Variable	Definición	Categoría	Escala	Unidad de Medición	
Quimerismo	Presencia de más de 95% de células del donador. 18	Cuantitativa dicotómica	nominal	0-100%	DNA del donador x 100/DNA del locus
Injerto	Neutrófilos \geq 500 μ l por 3 determinaciones continuas. Plaquetas \geq 50 000 sin trasfusión en 1 semana. 18	Cuantitativa dicotómica	nominal	Biometría hemática. Toma de muestra de 150 μ l, procesada en aparato automatizado Coulter	Ausente / Presente
Enfermedad Injerto Contra Hospedero	Es un síndrome clínico derivado de la reacción de las células inmunocompetentes del donador contra los tejidos del receptor.	Cuantitativa politómica	nominal	AGUDO: Grado I/II/III/IV CRONICO: órgano de afección: Pulmón/ Gastrointestinal/ Hepático/ Cutáneo	Ausente / Presente
Infección	Conjunto de alteraciones funcionales, morfológicas y productivas causadas por la presencia y multiplicación de un agente patógeno (virus, bacteria, hongo) en un organismo	Cuantitativa politómica	nominal	Número de eventos: bacterianos, virales y micóticos	Ausente / Presente
Recaida	la aparición de células tumorales originarias del cáncer primitivo, en cualquier parte del organismo, tras haber realizado cirugía o cualquier modalidad de tratamiento primario con intención curativa				
SOS	Se caracteriza por una obstrucción de las venas hepáticas centrales y pequeñas, sin afectación de las venas suprahepáticas propiamente tales. Se caracteriza por hepatomegalia dolorosa, ictericia y retención de líquidos y se manifiesta por el aumento de peso, edema y ascitis. La insuficiencia hepática puede producirse, manifestándose con coagulopatía y encefalopatía hepática.				
FALLA HEPATICA	Pérdida aguda de las funciones de síntesis, excreción y metabolismo del hígado				

EVENTOS DE MUERTE

Variable	Definición	Categoría escala	Unidad de Medición
Muerte	Extinción del proceso homeostático y por ende el fin de la vida.	Cualitativa nominal dicotómica	Presente / Ausente

SUPERVIVENCIA

DEFINICION OPERACIONAL DE VARIABLES

Variable	Definición	Categoría	Escala	Unidad de medición
Supervivencia libre de evento	Periodo transcurrido en meses desde el diagnóstico hasta la fecha de recaída. Con un seguimiento de 5 años.	Cuantitativa discreta	Calendario	Meses
Supervivencia global	Periodo transcurrido en meses desde el diagnóstico hasta la última cita o muerte. Con un seguimiento de 5 años.	Cuantitativa discreta	Calendario	Meses

MANIOBRA Y DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

FASE PRE RASPLANTE

En relación al paciente: se seleccionará de acuerdo a las indicaciones específicas de trasplante en la primera valoración, posteriormente realizar la apertura de expediente. Una vez que se cuente con el expediente se solicita autorización para realizar los estudios de HLA al paciente y los posibles donadores.

Se realizará estudio HLA-I de resolución intermedia (DNA) en pacientes y donantes. HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 Y HLA-DQB1 y se verifica que sean compatibles en al menos un haplotipo de cada loci.

Una vez establecida la fuente de la cual se obtendrán las células progenitoras hematopoyéticas se procede a realizar las evaluaciones pre trasplante; cardiología, endocrinología, neumología, nefrología, dermatología y estomatología, así como escala de lansky y determinaciones de infecciones virales entre otras, con la finalidad de ingresar al paciente en las mejores condiciones generales.

En relación al donante; serán movilizados con factor estimulante de colonias granulocíticas recombinante (G-CSF, Neupogen) a dosis de 10 µg/kg una vez al día subcutáneo durante 5 días consecutivos.

De acuerdo a los criterios de inclusión se elegirán a los pacientes candidatos a participar en este estudio y se realizarán la firma de consentimiento y asentimiento informados a los familiares donde se les dará a conocer los beneficios y las complicaciones que podrá tener el paciente y la posibilidad de supervivencia de acuerdo a las condiciones generales de este (anexo 1).

En caso de que los familiares prefieran que el paciente sea manejado fuera del protocolo, se accederá a dicha petición y el paciente será excluido del estudio y recibirán tratamiento de acuerdo al protocolo institucional establecido.

FASE DE TRASPLANTE

Los progenitores hematopoyéticos de sangre periférica serán recolectados mediante leucoaféresis de grandes volúmenes el día 6 de movilización.

Se administrará régimen de acondicionamiento no mieloablativo, con fludarabina a 30mgkdía intravenoso por 5 días, ciclofosfamida a 14.5mgkdía intravenoso por dos días, el sexto día se administrará radioterapia corporal total, con dosis de 2Gy (Anexo II)

La infusión de progenitores hematopoyéticos se realizará a través de catéter de alto flujo, central, sin depleción, previa premedicación con cloropiramina 1mgkdosis y paracetamol 10mgkdosis

La depleción leucocitaria se realizará mediante administración de ciclofosfamida 50mgkdosis en día 3 y 4 posterior a la infusión de células progenitoras hematopoyéticas, con rescates de mesna al 150% en base a la dosis de ciclofosfamida

Se realizará profilaxis infecciosa con cefepime a 20mgkdía intravenoso desde el ingreso del paciente a la unidad, Aciclovir 5mgkdía intravenoso u oral desde el día menos uno de acondicionamiento, fluconazol 6mgkdía intravenoso u oral desde el día menos uno de acondicionamiento

FASE POST TRASPLANTE

Se llevará a cabo profilaxis para EICH con mofetil micofenolato a partir del día 5 y hasta el día 180, así como tacrolimus a partir del día 5 postrasplante.

Se administrará factor estimulante de colonias de granulocitos a dosis de 10mcgkdía a partir del día más 5 postrasplante y se suspenderá al contar con tres biometrías hemáticas consecutivas con cuenta de neutrófilos mayores a 1000células/ul.

El seguimiento se realizará con estudios de laboratorio diarios; biometría hemática, química sanguínea, renal. Tiempos de coagulación dos veces por semana y pruebas de función hepática cada tercer día las muestras sanguíneas serán enviadas al laboratorio central del INP para su procesamiento. La toma de estas muestras sanguíneas no provoca anemia en los pacientes.

Estudios especiales; quimerismo basal posterior a la infusión, en los días 30, 60, 90 y 180 posteriores a la infusión, los cuales son enviados a Banco de sangre del INP para su realización.

Cuantificación de poblaciones inmunes en sangre periférica mediante citometría de flujo (linfocitos B, linfocitos T y subpoblaciones) en los días 60, 90, 180 y 365 posterior a la infusión, los cuales son enviados a laboratorio de biología molecular del INP para su realización

Serología viral en suero para Citomegalovirus, virus BK, VEB una vez por semana los primeros 60 días postrasplante, posteriormente una vez por mes, los cuales serán enviados a laboratorio de virología del INP para su realización

Estudio de extensión de la enfermedad: Aspirado de médula ósea y líquido cefalorraquídeo 30 días posteriores a la infusión de CD 34+

Consulta semanal una vez egresado de la unidad de trasplante, durante los primeros 30 días, posteriormente cada 15 días los siguientes 30 días, una vez al mes después de los 60 días post trasplante, si las condiciones del paciente lo permiten

EVALUACION DE EVENTOS ADVERSOS

TOXICIDAD HEMATOLÓGICA

GRADOS DE TOXICIDAD	DE GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV
HEMOGLOBINA	14 – 10 g/dl	10 – 8g /dl	8 – 6.5 g/dl	Menor de 6.5 g/dl
LEUCOCITOS	Mayores de 3000/mm ³	de 3000 – 2000/ mm ³	2000 – 1000/mm ³	Menos de 1000/mm ³
NEUTROFILOS	Mayores de 1500/mm ³	de 1500 – 1000/mm ³	1000 – 500/mm ³	Menores de 500/mm ³
LINFOCITOS	Mayores de 1500/mm ³	de 1400- 1000/mm ³	900 - 500/mm ³	Menores de 500/mm ³
PLAQUETAS	Mayores de 75000/mm ³	de 75 000 – 50 000/mm ³	50 000 – 25 000/mm ³	Menores de 25 000/mm ³

TOXICIDAD HEPÁTICA

GRADOS DE TOXICIDAD	DE GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV
AST	Mayor de 2.5/val N	2.6 – 5/val Normal	5.1 – 20/ val Normal	Mayor de 20/val Normal
ALT	Mayor de 2.5/val N	2.6 – 5/val Normal	5.1 – 20/ val Normal	Mayor de 20/val Normal
Fosfatasa Alcalina	Mayor de 2.5/val N	2.6 – 5/val Normal	5.1 – 20/ val Normal	Mayor de 20/val Normal
Bilirrubinas totales		Menor de 1.5/val Normal	1.5 – 3/ val Normal	Mayor de 3/ val Normal

RENAL

TOXICIDAD	GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV	GRADO V
	No toxicidad	Leve	Moderada	Severa	Muy Severa
ACLARAMIENTO DE CREATININA	Igual o mayor a 90	75%	50 – 74%	25 – 49%	Menos de 25%
BUN	Menor de 20	20 – 39	40 – 59	60 – 79	Igual o mayor a 80
CREATININA	Menos de 1/val N	Menos de 1.5/val N	1.5 – 3/val N	3.1 – 6/val N	Mayor de 6/val N

EICH AGUDO

GRADOS DE TOXICIDAD	GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV
PIEL	Exantema de menos del 25% de la piel	Exantema de 25 – 50% de la piel	Exantema en más de 50% de la piel	Eritrodermia generalizada con formación de bulas
HIGADO	Bilirrubinas 2 – 3mg/dl	Bilirrubina 3 – 6 mg/dl	Bilirrubinas 6 – 15mg/dl	Bilirrubinas mayor a 15 mg/dl
TRACTO GASTROINTESTINAL	Diarrea mayor de 500ml/día ó náusea persistente	Diarrea mayor de 1000 ml/día	Diarrea mayor de 1 500 ml/día	Dolor abdominal severo con o sin íleo

CRONICO

ORGANO O SISTEMA	CARACTERISTICAS CLINICAS
PIEL	Cambios liquenoides ó escleromatosos, xerodermia, descamación, eritema, despigmentación, alopecia, oncodistrofia
CAVIDAD ORAL	Liquen plano, xerostomia
OCULAR	Sicca, queratitis
HEPATICO	Ictericia
TRACTO GASTROINTESTINAL	Disfagia, síndrome de mala absorción, diarrea, anorexia, pérdida ponderal
PULMONAR	Bronquiolitis obliterante, tos, disnea,
INMUNOLOGICO	Infecciones por agentes oportunistas, bacterias encapsuladas,
HEMATOLOGICO	Trombocitopenia, eosinofilia

RECURSOS

MATERIALES:

El estudio se realizará en el servicio de trasplante del INP el cual es un hospital acreditado por el Seguro Popular para este procedimiento, por lo que cuenta con todas las condiciones necesarias para esto: unidad de trasplante de médula ósea acreditada, laboratorio 24 hrs del día, banco de sangre 24 hrs al día, servicio de radiología 24 hrs al día, servicio de radioterapia.

Los pacientes al ser menores de 18 años de edad y con diagnóstico de cáncer son ingresados al seguro popular para gastos catastróficos, el cual cubre de manera total, los gastos derivados del diagnóstico, tratamiento y complicaciones que puedan presentar los pacientes

HUMANOS:

- El responsable del estudio será el Jefe de la Unidad de trasplante de Médula ósea, capacitado para la realización de este tratamiento y el manejo de las posibles complicaciones.
- Residente de Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: Realizará el protocolo de investigación y el análisis de los datos obtenidos bajo asesoría del tutor metodológico, recolectará la información selección de pacientes así como de la evolución de los pacientes y bases de datos así como la búsqueda de la literatura para la elaboración del marco teórico así mismo estará encargado de realizar el monitoreo y el seguimiento clínico de los pacientes
- Asesor metodológico: Es el responsable de guiar el diseño del protocolo de investigación, la redacción de éste, así como apoyar en el análisis de la información para la presentación de los resultados.
- Las muestras sanguíneas serán tomadas por personal de enfermería capacitado y serán enviadas a los laboratorios respectivos dentro del INP para su análisis.

FINANCIAMIENTO:

Los pacientes que se someten a THDV en el INP tienen financiamiento por parte del seguro popular para gastos catastróficos, el cual cubre en su totalidad este tipo de tratamiento, por lo que la realización de este estudio no genera gastos adicionales

CONFLICTO DE INTERESES:

Los investigadores responsables señalan que no existe conflicto de interés para la realización de este estudio ni para su publicación.

CALCULO DE LA MUESTRA

Actualmente se trasplantan en el Servicio de Trasplante de células Progenitoras hematopoyéticas, 30 a 40 pacientes de manera anual. El 70% de estos pacientes tienen diagnóstico de Leucemia Aguda, de estos pacientes en el 60% de los casos, no se cuenta un donador relacionado o una fuente de cordón. Se espera que anualmente 16 pacientes sean candidatos a este tipo de tratamiento (THDV), por lo que en un periodo de tres años el número de pacientes sometidos a este procedimiento será de aproximadamente de 48. Por el bajo número de estos, la muestra de este estudio será a conveniencia incluyendo a todos los que se presenten en el periodo de tiempo del estudio.

ANALISIS ESTADISTICO:

Se realizará un análisis univariado por medio de pruebas de tendencia central para conocer las características de la muestra estudiada, y así establecer el tipo de distribución de cada variable; tratándose de variables numéricas continuas se realizará el cálculo de la media y desviación estándar o mediana con mínimos y máximos dependiendo del tipo de distribución; mientras que para las variables categóricas se obtendrá proporciones.

Se realizará una descripción de los valores obtenidos de las variables de desenlace como son: características clínicas, complicaciones más frecuentes y número de muertes y tiempo de injerto mieloide con la finalidad de reportar las características de estos pacientes a lo largo del curso clínico de su patología.

La supervivencia global y libre de evento se evaluará mediante la prueba de Kaplan Maier.

ASPECTOS ETICOS:

En acuerdo con los principios y las directrices que establece las buenas prácticas clínicas (BPC) de conformidad con los principios enunciados en la Declaración de Helsinki de 1964, y cuyo objetivo es la investigación en Farmacología Clínica, y con apoyo en lo previsto en la Ley General de Salud, en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de prestación de Servicios de Atención Médica, y de acuerdo a la Declaración de Helsinki, adoptada por la 18ºdeg; Asamblea Médica Mundial (Helsinki, 1964), revisada por la 29ºdeg; Asamblea Médica Mundial (Tokio, 1975) y enmendada por la 35ºdeg; Asamblea Médica Mundial (Venecia, 1983) y la 41ºdeg; Asamblea Médica Mundial (Hong Kong,1989), donde debe prevalecer el bienestar individual de los sujetos sometidos a estudio, por sobre los intereses de la ciencia y de la comunidad.

Este estudio se llevara a cabo con la estricta observación de los principios científicos reconocidos y respeto manejando de forma anónima y confidencial los datos obtenidos.

Estos mecanismos de seguridad consistirán en:

1. Revisión de este protocolo por el comité de investigación del Instituto Nacional de Pediatría.
2. Se archivará la información registrada del estudio durante un plazo mínimo de 2 años.
3. Se pondrá a disposición del Comité de Ética, de Investigación, y del Jefe de Servicio toda la información obtenida en este estudio
4. Asegura la confidencialidad de la información del estudio, así como la identidad de los pacientes.
5. No se cobrará por estudio.

	CRONOGRAMA	DE	ACTIVIDADES
Diseño metodológico del estudio	DICIEMBRE 2013		
Revisión por comité de Investigación y comité de ética		ENERO DE 2014	
Recolección de datos			DICIEMBRE DE 2014- DICIEMBRE 2016
Análisis de resultados			Enero 2017
Publicación de resultados			Enero – febrero 2017

Resultados

En el periodo de agosto de 2013 a febrero de 2014, se recibieron 20 pacientes en el servicio de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el Instituto Nacional de Pediatría, de los cuales 5 se sometieron a Trasplante haploidéntico con depleción in vivo, donador materno

La media de edad fue de 187 meses (15.5 años) con un mínimo de 144 meses y máximo de 216 meses. El 60% de los pacientes fueron de sexo femenino con una relación de M:H de 1.5:1. La mediana del Karnofsky al ingreso a la unidad de trasplante fue de 70. La mediana de la dosis celular fue de $7.4 \text{ mm}^3/\mu\text{l}$ con un mínimo de $1.54 \text{ mm}^3/\mu\text{l}$ y un máximo de $8.77 \text{ mm}^3/\mu\text{l}$. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características demográficas	
Variable	Proporción (5) N=5
Edad en meses	187 (144-216)
Sexo	
- Masculino	2 (40%)
- Femenino	3 (60%)
Tipo de donador	
- Materno	5 (100%)
- Paterno	0 (0%)
Tipo sanguíneo del Donador	
- O+	5 (100%)
- A+	0 (0%)
Karnofsky	70 (60-70)

El tipo de donador en el 100% de los caso fue materno con tipo sanguíneo O+. De manera basal el quimerismo del 100% se encontró en el 75% de los casos y se mantuvo de la misma forma hasta el día 60. Un paciente presento falla primaria de injerto. (Cuadro 2)

Cuadro 2. Características del trasplante	
Variable	Proporción (%) N=5
Quimerismo Basal	
- 100%	4 (75%)
- 0%	1 (25%)
Quimerismo 30 días	
- 100%	4 (75%)
- 0%	1 (25%)
Quimerismo 60 días	
- 100%	4 (75%)
- 0%	1 (25%)
Celularidad mm ³ /μl *10 ⁶	7.4 (1.54-8.77)
Tiempo de Injerto Mieloide en días	15 (13-30)

Se presentaron complicaciones infecciosas en todos los pacientes, el (100%) casos se presentó sépsis asociada a catéter, 40% sépsis de foco pulmonar, 40% sépsis sin germen.

Otras complicaciones presentadas fueron; 80% mucositis y 20% colitis neutropénica. (Cuadro 3)

Cuadro 3. Complicaciones	
Complicaciones	Proporción (%) N=5
Infeciosas	5 (100%)
- Sepsis Asociada a Catéter	5 (100%)
- Sepsis de Foco Pulmonar	2 (40%)
- Sepsis sin germen	2 (40%)
- Mucositis	4 (80%)
- Colitis Neutropénica	1 (20%)
- Cistitis hemorrágica	1 (20%)

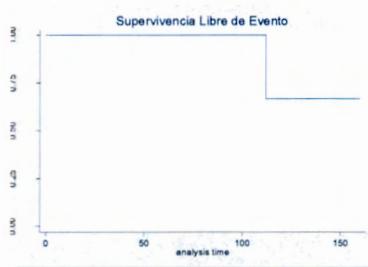
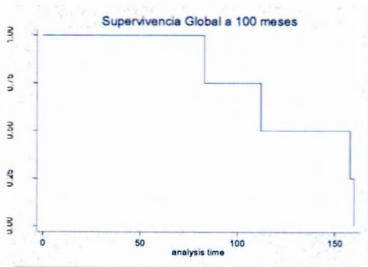
Se presentó enfermedad injerto contra huésped en 3 de 5 pacientes, la presentación fue gastrointestinal, hepático y cutáneo, ningún paciente presentó afección a nivel pulmonar. De la presentación cutánea el 100% fue grado III, del gastrointestinal el 50% presentó EICH grado II y 50% grado III respectivamente y del hepático el 100% fue grado II (Cuadro 4)

Cuadro 4. Grado de EICH	
Grado de EICH	Proporción (%) N=5
EICH	
- Cutáneo	2 (40%)
- Gastrointestinal	2 (40%)
- Hepático	2 (40%)
- Pulmonar	0 (0%)
EICH Cutáneo	
- Grado I	0 (0%)
- Grado II	0 (0%)
- Grado III	5 (100%)
- Grado IV	0 (0%)
EICH Gastrointestinal	
- Grado I	0 (0%)
- Grado II	2.5 (50%)

- Grado III	2.5 (50%)
- Grado IV	0 (0%)
EICH Hepático	
- Grado I	0 (0%)
- Grado II	5 (100%)
- Grado III	0 (0%)
- Grado IV	0 (0%)
EICH Pulmonar	
- Grado I	0 (0%)
- Grado II	0 (0%)
- Grado III	0 (0%)
- Grado IV	0 (0%)

Actualmente el 4 (60%) de los pacientes se encuentran vivos sin enfermedad, el 1 (20%) vivos con enfermedad y el 20% (1 paciente) falleció por complicaciones infecciosas. (Cuadro 5) La supervivencia global a 100 meses fue de 75% y la supervivencia libre de evento de 70% (Gráfico 1 y 2)

Cuadro 5. Estado Actual	
Estado Actual	Proporción (%)
N=5	
Vivo Sin Enfermedad	4 (60%)
Vivo Con Enfermedad	1 (20%)
Muerto	1 (20%)



CONCLUSIONES

Se considera al THDV un método factible económicamente, así como accesible para los pacientes que no cuentan con un donador compatible. En los estudios realizados a nivel internacional se ha visto una sobrevida global a 3 años de 41% y sobrevida libre de evento a 3 años de 32%. En este estudio la sobrevida global es de 75% y sobrevida libre de evento de 70% a 100 meses.

Las complicaciones más frecuentes observadas son; recaída en 37% y procesos infecciosos 7%, comparado con nuestro estudio en el cual se observó 100% de complicaciones infecciosas y 10% de recaída, sin embargo el tiempo de seguimiento y el número de pacientes deberá ampliarse para ofrecer mayores resultados.

Es importante enfatizar en la profilaxis y cobertura con antibióticos, antifúngicos y antivirales en los pacientes enrolados en nuestro estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. Margolin J., Steuber C., Poplack D. Acute Lymphoblastic Leukemia. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Pag 538- 580.
2. Hematopoietic Cell Transplantation Stem Cell Transplantation Edited by Frederick R. Appelbaum, MD. 2004 by Blackwell Publishing Ltd. Chapter 15. Mechanisms of Tolerance, 188-207
3. Guise J., Austin D., Morris, C. Review of Case Control Studies Related to Breastfeeding and Reduced Risk of Childhood Leukemia; Pediatrics 2005; 116: 724-731.
4. Avvisati G., Lo-Coco F. AIDA 0493 protocol for newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: very long- term results and role of maintenance; Blood, 22 may 2011- volume 117, number 18; 4715 – 4725
5. Conter V., Valsecchi M. Childhood high-risk acute lymphoblastic leukemia in first remission: results after chemotherapy or transplant from the AIEOP ALL 2000 study; Blood, 4 february 2014; 1-27
6. Balduzzi A, De Lorenzo P, Schrauder A. Eligibility to allogeneic transplantation in very high risk childhood acute lymphoblastic leukemia: the impact of the waiting time. Haematologica. 2008; 93(6):925-929.
7. Treatment of Acute Leukemias, Ed. Ching-Hon Pui, MD. Published by Humana Press Inc 2010. Chapter 17; 237-253
8. Treatment of Acute Leukemias, Ed. Ching-Hon Pui, MD. Published by Humana Press Inc 2010. Chapter 18; 255-265
9. Reisner Y, Hagin D. Haploidentical hematopoietic transplantation: current status and future perspectives. Blood, 1 december 2011 _ volume 118, number 23; 6006-17
10. Tarín-Arzaga L, González-Llano O. Trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas. ¿El límite de la incompatibilidad? .Revista de Hematología Volumen 13, núm. 1, enero-marzo 2012; 1-3
11. Huang X, Liu D, Liu K. Treatment of acute leukemia with unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and bone marrow transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 2009;15:257-267.
12. Munchel A., Kasamon Y. Treatment of hematological malignancies with nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation and high dose, post-transplantation cyclophosphamide. Best Pract Res Clin Haematol. 2011 September ; 24(3): 359–368.
13. Munchel A., Kesserwan C. Nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high dose, post-transplantation cyclophosphamide. Pediatric Reports 2011; volume 3:(s2)e15

14. Aversa F, Berneman Z, Locatelli F, Martinelli MF, Reisner Y, Tabilio A. Fourth international workshop on haploidentical transplants, Naples, Italy, July 8-10, 2004. *Blood Cells Molec Dis* 2004; 33: 159-175.
15. Vázquez-Meraz J., Arellano-Galindo J. Haploidentical Bone Marrow Transplantation in Mexico. *Pediatr Blood Cancer* 2012;59:950-952
16. González-de Llano O. Trasplante haploidéntico en niños. *Revista de Hematología* Vol. 11, Supl. 1, Abril-Mayo 2010; p. 29-30
17. Bilmon I, Kwan J, Gottlieb D. Haploidentical bone marrow transplants for hematological malignancies using nonmyeloablative conditioning therapy and post-transplant immunosuppression with cyclophosphamide: results from a single Australian centre. *Internal Medicine Journal*, 2012; 1-17
18. Hematopoietic Cell Transplantation Stem Cell Transplantation Edited by Frederick R. Appelbaum, MD. 2004 by Blackwell Publishing Ltd. Chapter 13 Natural Killer Cells and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation, 163-75
19. Liu H, Rich E. Reduced-intensity conditioning with combined haploidentical and cord blood transplantation results in rapid engraftment, low GVHD, and durable remissions. *Blood*, 8 december 2011. Volume 118, number 24; 6438-45.
20. Palma J, Salas L. Haploidentical Transplantation for High-Risk Leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2011;59:895-901.
21. O'Donnell P, Luznik L, Jones R. Nonmyeloablative bone marrow transplantation from partially HLA-mismatched related donors using postrasplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002;8:377-386.
22. Luznik L, O'Donnell P, Symons H. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using non-myeloablative conditioning and high-dose, postrasplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:641-650
23. O'Reilly R, Kernan N, Cunningham I. Allogeneic transplants depleted of T cells by soybean lectin agglutination and E rosette depletion *Bone Marrow Transplant* 1988;3:3-6
24. Rowe J, Lazarus H. Genetically haploidentical stem cell transplantation for acute leukaemia. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 669-676.
25. Ringhoffer M, Wiesneth M, von Harsdorf S, Schlenk R, Schmitt A, Reinhardt P. CD34+ cell selection of peripheral blood progenitor cells using the CliniMACS device for allogeneic transplantation: clinical results in 102 patients. *Br J Haematol* 2004; 126: 527-535
26. Wang H, Yan H. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in hematologic malignancies with G-CSF mobilized bone marrow plus peripheral blood stem cells grafts without T cell depletion: a single center report of 29 cases. *Heng-Xiang Wang , Hong-Min Yan et al. Leukemia & Lymphoma*, April 2012; 53(4): 654-659
27. Rubnitz J, Pui C. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia; *The Oncologist* 1997; 2: 374-380

ANEXO I. HOJA DE CAPTURA DE DATOS
EFICACIA DEL TRASPLANTE HAPLOIDENTICO CON DEPLECION IN VIVO, EN NIÑOS CON LEUCEMIA AGUDA MEILOBLASTICA
REFRACTARIA O EN RECAIDA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA.

CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS

Nombre: _____ Registro: _____

Fecha de nacimiento: ___/___/___ dd/mm/aa Edad al diagnóstico en meses: _____

DIAGNOSTICO: _____

KARNOFSKY: _____

Fecha de trasplante: _____

Celularidad: _____

Donador: _____

Tipo sanguíneo del donador: _____

Fecha de injerto mieloide: _____

Quimerismo postrasplante: _____

Quimerismo día +30: _____

Quimerismo día + 60: _____

Quimerismo día + 90: _____

Quimerismo día + 180: _____

Complicaciones :

Infeciosas

Sepsis asociada a catéter si: _____ no: _____ número: _____

Sepsis de foco pulmonar sí: _____ no: _____ número: _____

Sepsis sin germen sí: _____ no: _____ número: _____

Mucositis sí: _____ no: _____ número: _____

Colitis Neutropénica sí: _____ no: _____ número: _____

OTRAS:

Cistitis hemorrágica sí: _____ no: _____ número: _____

EICH Cutáneo sí: _____ no: _____ grado: _____

EICH gastrointestinal sí: _____ no: _____ grado: _____

EICH hepático sí: _____ no: _____ grado: _____

EICH Pulmonar sí: _____ no: _____ grado: _____

PROFILAXIS DE EICH: _____

ANEXO II

REGIMEN DE ACONDICIONAMIENTO DE INTENSIDAD REDUCIDA

El acondicionamiento se administrará fludarabina a 30mg/m²/dosis intravenoso, en infusión de 30 a 60 minutos cada 24 horas los días -6 a -2, administrando una dosis total de 150mg/m²; se ajustara la dosis a depuración de creatinina de así requerirlo el paciente. Pacientes con depuración de creatinina de 46-60ml/minuto recibirán una dosis de 24mg/m², y aquellos con tasa de filtración glomerular de 31-45ml/minuto recibirán una dosis de 22.5mg/m².

Se administrara ciclofosfamida a 14.5mg/kg intravenoso cada 24 horas los días -6 y -5; se agregará mesna 150% en relación a la ciclofosfamida, administrándose a las 3, 6, 9 y 12 horas posteriores a la administración de la ciclofosfamida y soluciones de hiperhidratación.

Finalmente se administrara irradiación corporal total 2 Gy en una sola fracción el día -1; con acelerador lineal.

El día 0 se realizara la infusión de células progenitoras hematopoyéticas no depletadas de células T por catéter central de alto flujo. La toma de las células se realizara de sangre periférica estimulada. En caso de incompatibilidad mayor ABO se realizara depleción de glóbulos rojos de las células del donador.

La profilaxis de enfermedad injerto contra hospedero se realizara con ciclofosfamida 50mg/kg/dosis en infusión de 1 hora el día +3 (60-72 horas posterior a la infusión de células) y día +4 después de la infusión. Se agregará mesna al 150% en relación a la ciclofosfamida y se administrará a las 3, 6, 9 y 12 horas de administrada la ciclofosfamida.

Adicionalmente los pacientes recibirán tacrolimus y micofenolato iniciando el día +5 post-trasplante. El micofenolato se administrara 15mg/kg/dosis cada 8 horas (dosis máxima diaria de 3g) hasta el día +35. El tacrolimus 0.075 mg/kg/día vía oral cada 12 horas y se administrará en dosis escalada hasta lograr niveles de 5-15ng/ml con plan a discontinuarse al día +180 posterior al trasplante. Se tomarán niveles al día 7 y posteriormente se vigilaran de forma semanal para ajustar dosis.

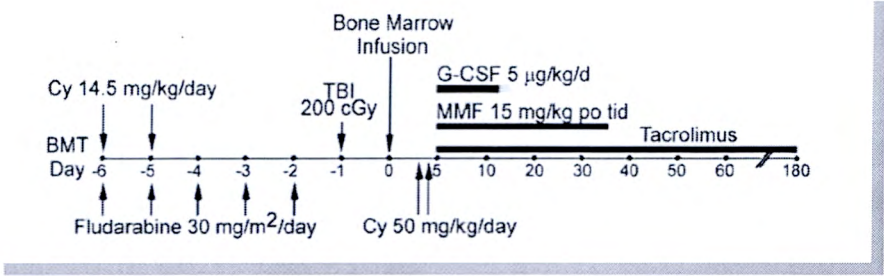
Se iniciara filgrastim al día +5 a 10mcg/kg/día hasta tener una cuenta de neutrófilos mayor a 1000/mcl por 3 días consecutivos.

Se tomaran quimerismos basal, posteriormente los días +30, +60, +90, +180 y +365.

Tratamiento de Soporte

Se administraran transfusiones, leucoreducidas y radiadas en caso de ser necesario, profilaxis para infecciones antibacterianas, antiviral y antimicótica

Los protocolos nutricionales se seguirán de forma independiente de acuerdo a cada paciente. ⁷⁻¹³



ANEXO III

COMPLICACIONES

Enfermedad Injerto Contra Hospedero

La Enfermedad Injerto Contra Hospedero (EICH) es la mayor causa de morbi y mortalidad posterior al trasplante alogénico. Es un síndrome clínico derivado de la reacción de las células inmunocompetentes del donador contra los tejidos del receptor.

La incidencia de EICH grado II a IV es de aproximadamente 40%, pero puede variar de 10 hasta 80% de acuerdo a los factores de riesgo. Así mismo su incidencia varía dependiendo del tipo de trasplante realizado, presentándose en 30 a 50% de los paciente que son sometidos a un trasplante de donador relacionado HLA idéntico y hasta 50 a 80% de los que reciben trasplante de un donador no relacionado.

La fisiopatología del EICH agudo después de un trasplante alogénico debe ser considerado un proceso de tres pasos en la cual hay una interacción del sistema inmune innato y el adaptativo. Existiendo los siguientes pasos:

1.- Daño de los tejidos del receptor por el régimen de acondicionamiento pretrasplante (radiación, quimioterapia)

El régimen de acondicionamiento causa daño y activación de las células presentadoras de antígenos del receptor por citocinas inflamatorias.

2.- Activación y expansión clonal de células T del donador

Las células presentadoras de antígenos (CPA) presentan el aloinjerto a las células T restantes y las activa. La activación de células T del donador es caracterizada por proliferación células y secreción de IL-2, INF- γ .

3.- Factores celulares e inflamatorios.

Los fagocitos mononucleares y los neutrófilos causan inflamación dirigida por mediadores como liposacárido. La inflamación afecta a las células en los órganos blancos, amplificando el daño local a los tejidos con mayor producción de citocinas inflamatorias quienes conjuntamente con los linfocitos T citotóxicos causan destrucción del tejido blanco.

El EICH tradicionalmente se ha dividido en aguda y crónica basados en el tiempo de presentación y las manifestaciones clínicas e histológicas. El criterio inicial de 100 días después del trasplante para separar la enfermedad aguda de la crónica ha cambiado, ya

que hay manifestaciones crónicas y manifestaciones agudas que pueden persistir después de los 100 días.

Los principales órganos blancos del EICH aguda son la piel, hígado, e intestinos. La patología del EICH usualmente incluye daño epitelial a órganos blanco, la cual es usualmente de naturaleza apoptótica

Posterior a un acondicionamiento convencional, el EICH se puede presentar 14-35 días después de la infusión de células progenitoras. El tiempo depende del grado de histocompatibilidad, el número de células T infundidas y el régimen profiláctico.

Involucro en piel

La manifestación más común es la presencia de un exantema maculopapular eritematoso, confluyente que involucra palmas y plantas. El exantema puede ser asintomático, prurítico o doloroso, típicamente inicia en áreas expuestas (hombros, cara, brazos y detrás de las orejas). Las manifestaciones pueden presentarse entre el 6 y el 90% de los pacientes dependiendo de la edad, el tipo de HLA y los protocolos de profilaxis empleados.

La sensibilidad y especificidad de una biopsia de piel no ha sido establecido, sin embargo ante la sospecha de EICH en piel esta indicada la realización de este procedimiento.

La unión dermoepidérmica es la mas severamente afectada presentándose una degeneración vacuolar de la epidermis y de las células basales, con desorganización de la maduración de las células epidérmicas, formación de cuerpos eosinofílicos e incontinencia melanocítica.

Aproximadamente 90% de los pacientes con enfermedad Grado I sobreviven 100% comparado con el 60% de los pacientes con enfermedad grado II o III y 0 a 20% de los que tienen enfermedad grado IV.

Involucro Hepático

La presencia de ictericia progresiva es la manifestación más común de las manifestaciones hepáticas de la EICH.

La fosfatasa alcalina es un marcador diagnóstico sensible pudiéndose encontrar valores hasta 20 veces mayores que los normales, la cual se incrementa de manera paralela con los niveles de bilirrubinas.

El EICH moderado resulta en la elevación de dos o tres veces de sus valores normales de Bilirrubina Total, en casos más severos puede llegar incluso a tener niveles ente 10 a 20 mg/dl.

Los niveles de AST y ALT están frecuentemente elevados, especialmente durante las primeras etapas de la EICH, sin embargo casi nunca se encuentra niveles más de 10 veces por arriba del valor normal.

La biopsia hepática es importante para confirmar el diagnóstico y excluir otras causas tratables de disfunción hepática como fármacos, infecciones virales o fúngicas.

Típicamente se caracteriza por un infiltrado de linfocitos en los ductos biliares pequeños pudiéndose encontrar pleomorfismo nuclear. Así mismo en los ductos biliares pequeños se puede encontrar disrupción segmentaria, daño del epitelio biliar periductal y degeneración celular, así como colestasis.

Involucro Intestinal

Se puede manifestar por náuseas, anorexia, dolor, diarrea secretora. En casos severos puede haber falla de la función intestinal dado por daño a la mucosa, causando enteropatía perdedora de proteínas con hipoalbuminemia, sangrado en evacuaciones o íleo. Puede presentarse únicamente gástrico manifestándose como náusea o vómito. La toma de biopsias rectal, gástrica o duodenal son específicas y algunas veces patognomónicas.

El EICH en la parte superior del tracto gastrointestinal es relativamente sensible al tratamiento con esteroides ya sean sistémicos u orales.

En el estudio histopatológico se pueden observar úlceras de la mucosa y destrucción de las criptas, siendo más afectadas las basales. El área con mayor afección es el íleo mostrando apoptosis de las células crípticas y alteraciones en las estructuras de las vellosidades.

Otros Órganos

La triada clásica de afección del EICH es el hígado, piel e intestino, sin embargo hay múltiples reportes de manifestaciones adicionales. La más común es la afección pulmonar.

La toxicidad pulmonar puede incluir neumonitis y hemorragia alveolar masiva, esto puede ocurrir en 20 a 60% de los receptores de un transplante alogénico, así como en algunos transplantes autólogos.

Grado	Piel	Hígado	Tracto Gastrointestinal
1	Exantema en menos del 25% de la piel	Bilirrubina 2-3mg/dl	Diarrea >500ml/día o náusea persistente
2	Exantema en 25-50% de la piel	Bilirrubina 3.6mg/dl	Diarrea >1000ml/día
3	Exantema en más de 50% de la piel	Bilirrubina 6-15mg/dl	Diarrea >1,500ml/dl
4	Eritrodermia generalizada con formación de bulas	Bilirrubina mayor a 15mg/dl	Dolor abdominal severo con o sin ileo

ANEXO IV

RECONSTITUCION INMUNOLOGICA

La reconstitución inmunológica involucra la reconstitución de diversas familias celulares y diversas moléculas: el sistema innato de las células NK, la inmunidad adaptativa de las células T y B, la regeneración de células presentadoras de antígenos y la producción de anticuerpos.

RECUPERACIÓN DE LA RESPUESTA INNATA

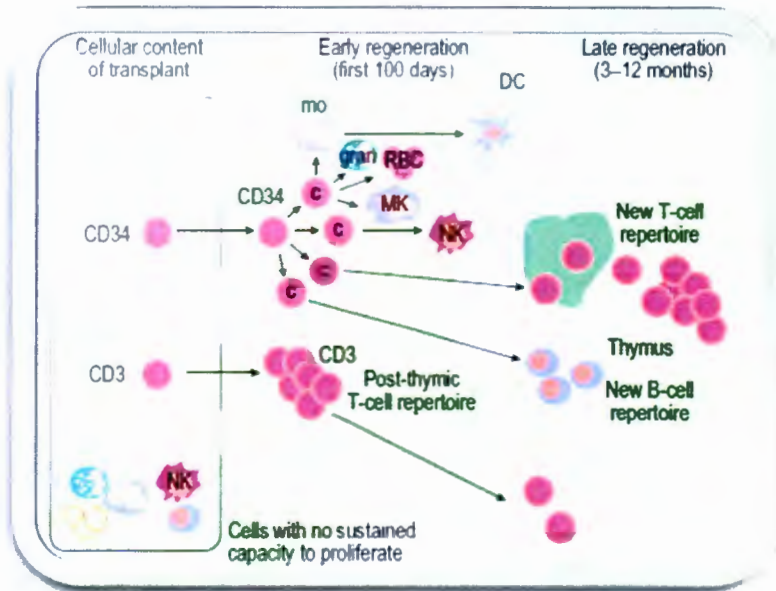
Las células NK son las primeras células del sistema inmune en recuperar sus niveles plasmáticos normales, generalmente en el primer mes postrasplante. El incremento en la producción de factores de crecimiento de linfocitos, especialmente IL- 12, IL- 15, estimulan rápidamente la génesis de las células NK procedentes de células CD 34. Las células presentadoras de antígenos derivadas de las células CD 34 incluyen monocitos/ macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans y células B. La reconstitución inmunológica inicia a las semanas posteriores al trasplante y está completa generalmente a los 6 meses postrasplante.

RECUPERACION DE LA RESPUESTA ADAPTATIVA

La reconstitución inmunológica de células T seguido de la infusión de células progenitoras hematopoyéticas es inmediata debido a que derivan de la infusión de células T postmíticas y posteriormente son generadas de células CD 34 de la médula ósea y procesadas por el timo del receptor. La recuperación de células T CD 8+ supera la recuperación de células CD4+ con una deficiencia asociada a la inmunidad mediada por células. Después del trasplante hay una rápida proliferación de linfocitos injertados, conducidos por la liberación de factores de crecimiento de linfocitos IL-2, IL- 12, IL – 15 e IL- 18 en respuesta a la linfopenia. Las células T injertadas tienen funciones importantes después del trasplante, interactúan con las células presentadoras de antígenos del receptor y las células de la piel, tracto gastrointestinal, hígado, células T del receptor y de las células de médula ósea, de igual forma reconocen y llevan a apoptosis a las células malignas a través del denominado injerto contra leucemia

INMUNIDAD HUMORAL

La reconstitución completa de producción de anticuerpos seguida de la generación de nuevos precursores de células B, precedidas de células progenitoras hematopoyéticas injertadas. La inmunidad humoral después del trasplante tiene una recuperación lenta, con niveles de inmunoglobulinas que alcanzan niveles normales entre los 6 y 12 meses, más largo aún para la IgA y en los pacientes que desarrollan EICH



Las subpoblaciones de leucocitos se analizan mediante análisis de citometría de flujo. Los valores normales fueron obtenidos de las tablas de referencia del estudio de Comans- Bitter et al.

SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS X 10 ⁹ /L	GRUPOS DE EDAD			
	9- 15 meses	15- 24 meses	2 - 5 años	5 - 10 años
Linfocitos Totales	5.5 (2.6 - 10.4)	5.6 (2.7 - 11.9)	3.3 (1.7 - 6.9)	2.8 (1.1 - 5.9)
Linfocitos BCD 19+	1.4 (0.6 - 2.7)	1.3 (0.6 - 3.1)	0.8 (0.2 - 2.1)	0.5 (0.2 - 1.6)
Linfocitos T CD3 +	3.4 (1.6 - 6.7)	3.5 (1.4 - 8.0)	2.3 (0.9 - 4.5)	1.9 (0.7 - 4.2)
Linfocitos T CD 4+	2.3 (1.0 - 4.6)	2.2 (0.9 - 5.5)	1.3 (0.5 - 2.4)	1.0 (0.3 - 2.0)
Linfocitos T CD 8+	1.1 (0.4 - 2.1)	1.2 (0.4 - 2.3)	0.8 (0.3 - 1.6)	0.8 (0.3 - 1.8)
Relación CD4+/CD8+	2.4 (1.3 - 3.9)	1.9 (0.9 - 3.7)	1.6 (0.9 - 2.9)	1.2 (0.9 - 2.6)
Células NK CD 3-/CD 16+ 56+	0.4 (0.2 - 1.2)	0.4 (0.1 - 1.0)	0.4 (0.1 - 1.0)	0.3 (0.09 - 0.9)