

Inducción de enfermedad injerto contra huésped en el trasplante autólogo

Marín GH¹, Porto A², Prates V², Napal J², Etchegoyen O²,
Castelletto R², Bordone J², Morales V², Milone J².

*1 Cat. de Farmacología, Fac. de Cs. Médicas, U.N.L.P.
2 Instituto de Trasplante de Médula Ósea, Fundación Mainetti.*

*Correspondencia: Dr. Marín Gustavo H. Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina
Universidad Nacional de La Plata Calle 60 y 120 (1900) La Plata, Argentina
Tel/Fax: 820117 E-Mail: quintela@vsi.unlp.edu.ar*



**ARTICULO
ORIGINAL**

HEMATOLOGIA, Vol. 2 N° 1: 19-26
Enero - Abril

INTRODUCCION

La recaída sigue siendo la mayor causa de mortalidad de las enfermedades malignas hematológicas tratadas con intensificación terapéutica seguida de trasplante autólogo de médula ósea (TAMO). La ausencia del efecto injerto contra el tumor (EICT), que usualmente se halla asociado al efecto injerto contra huésped (EICH), contribuye en gran manera a incrementar el índice de recaídas. La reacción EICH/EICT es causada por linfocitos que normalmente reconocen los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) en las células blanco. Considerando que la recaída está originada por unas cuantas células que lograron escapar al tratamiento con altas dosis de quimioterapia, la meta sería eliminar dichos elementos inmediatamente después de la intensificación. Pensar en ese momento en una nueva agresión al organismo con fármacos mioablativos es incrementar la toxicidad, con un beneficio no del todo satisfactorio como lo demuestran algunos trabajos de doble trasplante.

La terapia inmune, (como la inducción de EICT) podría contribuir significativamente en la prevención de la recurrencia de enfermedad luego de un TAMO. Por esta razón, en los últimos años, los esfuerzos de varios grupos de trabajo, incluyendo al nuestro, han desarrollado la mejor manera de inducción de EICH/EICT en este tipo de trasplantes.

Algunos reportes demostraron EICH en trasplante autólogo, luego de la administración de ciclosporina A (CSA) [9, 10, 11], la cual previene la deleción clonal de células T autorreactivas que reconocen antígenos del

CMH; así como con el interferón alfa 2b (IFN α 2b) [14] que incrementa la expresión de dichos antígenos en la superficie de las células normales y tumorales. El factor estimulante de colonia granulocítico-macrofágico (GM-CSF) por su parte, demostró capacidad para aumentar la función de las células LAK, incrementando también el número de linfocitos CD8+ circulantes y los niveles de IL2, por lo que también jugaría un rol para eliminar la enfermedad mínima residual (MRD) luego del trasplante [15].

Con el fin de incrementar el EICH/EICT en el trasplante autólogo de células progenitoras periféricas y evaluar el impacto de dicha inducción en la supervivencia, randomizamos a los pacientes sometidos a TAMO, en grupos que recibieron CSA/IFN α 2b/GM-CSF o CSA/GM-CSF; sirviendo como grupos controles, aquellos pacientes que recibieron bajas dosis de CSA oral o sólo GM-CSF.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes

80 pacientes fueron sometidos a TAMO en el período septiembre 1993 - marzo 1997. Los diagnósticos fueron linfoma no Hodgkin (LNH) en 22 casos, enfermedad de Hodgkin (EH) en 18 casos, 11 mielomas múltiples (MM), 18 leucemias (13 LMA, 3 LLA, 2 LMC), 11 tumores sólidos (8 cánceres de mama (CM), 1 seminoma, 2 carcinomas embrionarios). La edad media de los pacientes fue de 35 años (7-60). De ellos, 34 fueron de sexo femenino y 46 masculino. El

Tabla 1-Información General de los Pacientes

Grupo	Nº de pacientes	Edad (años)	SLE antes del TAMO (meses)	Status pre-TACP RP/RC	Tiempo desde diagnóstico al TACP (meses)	Tiempo para el Engraftment		Hospitalización (días)	CMN infundidas (x10 ⁶)	Células CD34+ infund.
						GB (días)	Plaquetas (días)			
A	23	35.7	3.8	13/10	27.0	13.4	16.7	28.8	3.62(+2.04)	4.66(+4.22)
B	17	33.3	4.4	9/8	16.7	13.7	17.6	28.6	4.40(+2.59)	3.12(+3.19)
C	21	32.5	9.6	10/11	29.3	13.5	22.1	28.1	4.81(+1.67)	3.67(+3.83)
D	19	38.0	3.8	7/12	20.6	13.6	18.2	27.8	3.33(+1.80)	4.51(+3.89)
EICH (23)		34.5	4.9	13/10	20.0	14.0	17.7	28.4	3.92(+2.21)	3.42(+3.63)
No EICH (57)		35.1	7.5	27/30	23.7	13.7	19.5	28.3	4.01(+2.04)	4.29(+3.81)

Grupo: A: recibió CSA endovenosa, IFN-2b y rhGM-CSF; B: ídem A pero sin IFN; C: CSA oral y GM-CSF &; D: sólo GM-CSF. Grupos EICH y no-EICH son pacientes de los grupos anteriores que desarrollaron o no, enfermedad injerto contra huésped. CMN: células mononucleares; SLE: sobrevida libre de enfermedad; (considerada desde el trasplante hasta la recaída por enfermedad). TACP: trasplante autólogo de células progenitoras; RP: remisión parcial; RC: remisión completa.

tiempo medio desde el diagnóstico hasta el TAMO fue de 24 meses (4-144) (Tabla 1). Todos los pacientes (excepto aquellos con LMA y LMC) eran recaídos a una primera línea de tratamiento y recibieron al menos una segunda línea antes del trasplante. La sobrevida libre de enfermedad con el tratamiento previo a la intensificación fue de 5.4 meses (rango 1-36) y fueron considerados sensibles al último esquema utilizado, que fue ESHAP para los LNH y EH, VAD para los MM, y CVC para los cánceres de mama metastásicos. 40 pacientes estaban en remisión completa (RC) y 38 en remisión parcial (RP) al momento del trasplante (2 LMC estaban en fase crónica) (Tabla 2). El esquema de movilización utilizado, fue terapia mieloablativa (ciclofosfamida-CFM- 4gr/m² o ESHAP) más 5 ug/kg de G-CSF.

Regimen de Acondicionamiento

El regimen de intensificación usado fue CBV (CFM 1.5 gr/m²/d x4, BCNU 300 mg/m²/d x1 y Etopósido 200 mg/m²/d x3) para LNH y EH, Melfalán (100mg/m²/d x2) para MM, BUCY (Busulfán 16 mg/kg/d x4 y CFM 60 mg/kg/d x2) para todas las leucemias, CBT (CFM 2000 mg/m²/d x3, BCNU 150 mg/m²/d x3, Thiotepa 240mg/m²/d x3) para Ca. de Mama, y ICE (Ifosfamida 3000 mg/m²/d x4, Carboplatino 500 mg/m²/d x3, Etopósido 500 mg/m²/d x3) para los demás tumores sólidos. Células Progenitoras Periféricas fueron usadas para la reinfusión.

Inducción de EICH

Luego de la reinfusión de células progenitoras, un grupo (A) recibió CSA 1mg/kg/d en forma endovenosa (EV) e IFN-2b 1.000.000 U/d subcutáneo (SC) del día 0 al +28, y rhGM-CSF 250 ug/m², del día 1 hasta el engraftment. Otro grupo (B) recibió sólo CSA y rhGM-CSF (dosis, forma y duración del tratamiento

igual al grupo A). Un tercer grupo (C) recibió sólo CSA oral 1mg/kg/d del día 0 al +28+GM-CSF. El grupo D sólo recibió rhGM-CSF del día 1 hasta el día del engraftment. Los niveles de CSA fueron controlados una vez a la semana por el método de Inmunoensayo por polarización fluorescente.

Todos los pacientes fueron inspeccionados diariamente en busca de rash, complicaciones infectológicas, renales o gastrointestinales. Ante la presencia de rash, una biopsia de piel (punch de 4 milímetros de profundidad) era tomada e inmediatamente separada en dos mitades. Una de ellas era procesada para el estudio histológico de rutina mediante microscopía óptica; mientras que la segunda mitad era congelada a -80°C hasta su análisis. Una sección de cuatro uM de ancho era colocada en portaobjetos cubiertos por gelatina y luego fijada en acetona fría durante 5 minutos, para luego ser marcados usando técnicas de APAAP. Luego de una noche de incubación a 4°C con anticuerpos anti-ratón CD4, CD20, las piezas eran lavadas con solución buffer salina tri-distilada e incubadas por 30 minutos con APAAP. La reacción era revelada usando sal de sodio-fosfato naftol-AS-MX, 1nM de levamisole, y sal Fast-Red (Sigma). Todas las secciones eran contadas también con hematoxilina. De no existir rash, la biopsia era realizada al día +21 post-trasplante siguiendo los mismos métodos de procesamiento.

Evaluación de los pacientes

El engraftment de neutrófilos fue considerado positivo cuando se estaba en presencia de más de 1x10³/mm³ elementos segmentados durante dos días consecutivos. El engraftment plaquetario se consideró en la cifra de 25x10³/mm³ sin transfusiones, mantenida durante dos días. El tiempo de hospitalización se tomó desde el ingreso del paciente para el régimen acondicionante hasta el mismo día de alta. La sobrevida libre

Tabla 2-Datos de los Pacientes con EICH previo al trasplante autólogo

Paciente	Edad	Diagnóstico	Fecha del diagnóstico	Tiempo entre diag.	Estadio inicial y TACP	Tratamientos previos al TACP	SLE (meses)	Status pre-trasplante
D.A.	48	MM	03/93	21	Melfalán/Pred x 10 VAD x 3	6	RP
D.G.	25	EH	10/93	15	IV B	Copp-ABV x 6 RT, ESHAP x 2	11	RC
A.R.	38	EH	10/93	20	III B	COPP x 8 RT, ESHAP x 2	1	RC
D.S.J.	55	LNH	01/89	72	IV A	CAVPE x 6, MINE x 6, ICE x 2	9	RC
A.J.	36	LMA	12/94	10	ZAT-91	4	RC
M.S.M.	36	Ca.Mama	01/94	12	IV B	Cirugía Taxol	?	RP
LA.	22	EH	10/94	11	II B	COPP-ABV x 6 ESHAP x 3	1	RC
S.A.	16	EH	01/94	23	IV B	COPP-ABV x 6, RT ESHAP x 3	3	RP
R.L.	46	MM	12/94	12	RT, VAD x 6	3	RP
S.G.	22	EH	05/94	18	IV B	CHOP x 7, COPP-ABV x 8 ESHAP x 3	2	RC (3era)
P.W.	25	LNH	06/94	19	IV B	CHOP x 6 ESHAP x 3	1 1	RP
S.D.	45	LMC	01/92	26	Busulfan, Hidroxiurea, ICE	Fase Crónica
E.C.	31	Ca. Mama	12/94	20	II B	CVC x 5 CEF	2	RP
A.J.J.	36	LNH	09/90	50	II B "Bulky"	CHOP x 8, Clorambucilo, CAVPE x 6	16	RC (3era)
A.E.	18	LMA	09/95	4	LMA-90	3	RC
C.M.	48	Ca.Mama	02/94	22	III B	Cirugía CVC	6	RP
C.D.	24	LLA	03/93	36	BFM	8	RC
G.M.	35	Ca.Mama	08/94	18	IV B	Cirugía CVC	7	RP
G.N.	45	MM	12/95	8	VAD x 5	3	RP
M.H.	53	MM	01/94	13	VADx3, Ciclofosfamida x 2	3	RP
M.K.	24	EH	03/94	12	III B	COPP-ABV x 8, ESHAP x 3	3	RP
P.G.	40	LNH	06/94	9	II B "Bulky"	CAVPE x 6, RT, MACOP- B x 3, ESHAP x 4	2	RP
R.R.A.	27	LMA	05/95	10	AML 90	2	RC

EICH: enfermedad injerto contra huésped; TACP: trasplante autólogo de células progenitoras; RP: remisión parcial; RC: remisión completa.

Diagnóstico: MM: mieloma múltiple; EH: Enfermedad de Hodgkin; LNH: linfoma no Hodgkin; LMA: leucemia mieloide aguda; Ca.Mama: carcinoma mamario; LMC: leucemia mieloide crónica; LLA: leucemia linfoblástica aguda.

Tratamientos: Pred.: prednisona; VAD: vincristina, doxorubicina, dexametasona; COPP: ciclofosfamida, vincristina, prednisona, procarbazona; ABV: doxorubicina, bleomicina, vinblastina; RT: radioterapia; ESHAP: etopósido, metilprednisolona, citarabina, cisplatino; CAVPE: ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona, etopósido; MINE: mesna, ifosfamida, mitoxantrona, etopósido; ICE: ifosfamida, carboplatino, etopósido; ZAT 91: idarubicina, citarabina, tioguanina; CVC: ciclofosfamida, etopósido, cisplatino; CEF: ciclofosfamida, epirrubina, 5-fluoracilo; LMA90: citarabina, mitoxantrona; MACOP-B: metotrexato, doxorubicina, vincristina, ciclofosfamida, prednisona, bleomicina; BFM: protocolo Berlin-Frankfurt-Munich para LLA.

de enfermedad (SLE) se consideró desde el día de la reinfusión de células progenitoras hasta la detección clínica o biológica de recaída y la supervivencia global (SG) desde el día 0 del trasplante hasta el último control clínico u óbito del paciente.

Análisis Estadístico

Todos los números están expresados en cifras medias seguidas del rango, excepto por el número de CMN infundidas antes del régimen acondicionante, que fueron expresadas en cifras promedio seguidas de desviación estándar. El análisis de supervivencia (probabilidad de SLE o SG) fue expresado por la fórmula de Kaplan-Meier.

RESULTADOS

23 pacientes fueron incluidos en el grupo A, 17 en el B, 21 en el C y 19 pertenecieron al grupo D. El paciente AE del grupo B recibió 4 días de GM-CSF mientras que RI del grupo A sólo 3 días de CSA, ambos por intolerancia a esos fármacos.

El número promedio de CMN infundido (expresado en $\times 10^8/\text{kg}$), fue de 3.62 (± 2.59) para el grupo A, 4.40 (± 2.59) para B, 4.81 (± 1.67) para C, y 3.33 (± 1.80) para D. No hubo diferencias significativas entre los cuatro grupos.

El tiempo medio para el engraftment de glóbulos blancos fue de 13.4, 13.7, 13.5, y 13.6; y para plaquetas de 16.7, 17.6, 22.1, 18.2 para los grupos A, B, C, y D respectivamente (Tabla 3).

Un rash eritemato-máculo-papular fue detectado en 8 pacientes del grupo A (35%) y 8 del grupo B (47%), no siendo objetivado en los pacientes del grupo C o D. Su aparición ocurrió en el día +14 (6-20) y la duración fue de 6 días (2-12). La localización más frecuente fue tronco superior (12 casos -3 de ellos también en cara- y 2 involucrando palmas); en 3 casos el rash fue generalizado y en un paciente sólo comprometió rostro.

Las biopsias mostraron EICH agudo en 23 casos, 13 pacientes del grupo A (56.5% del total de los pacientes del grupo), y 10 del grupo B (58.8%) (tabla 2). Los grupos C y D tuvieron biopsias negativas. De los grupos

Tabla 3-Datos de los Pacientes con EICH en el Post-Trasplante

Paciente	Régimen mieloablativo	CMN $\times 10^8/\text{kg}$, infundidas	CD34 $\times 10^6/\text{kg}$, infundidas	Grupo	GB	Plaquetas	Sed. Glob. unidad	Plaquetas Unidad	ATB (días)	Hosp. (días)	Rash (días)	Rash localización
D.A.	Melfalán	5.91	2.90	A	+12	+17	1	8	7	26	Sí(+20)	Tronco
D.G.	CBV	5.02	2.02	A	+15	+16	5	11	10	27	Sí(+6)	Tronco/Cara
A.R.	CBV	5.20	1.50	A	+13	+14	4	6	7	24	No
D.S.J.	CBV	1.44	1.76	A	+15	+13	4	5	10	22	No
A.J.	BUCY	2.50	1.11	A	+14	+18	4	9	10	27	Sí(+20)	Tronco
M.S.M.	CBT	9.41	12.0	A	+11	+11	2	13	30	45	Sí(+16)	Tronco
L.A.	CBV	2.03	0.84	A	+17	+17	2	4	10	27	No
S.A.	CBV	1.97	1.48	A	+18	+23	2	13	14	30	No
R.I.	Melfalán	2.68	9.59	A	+12	+12	1	4	10	27	Sí(+13)	Tronco
S.G.	CBV	2.31	2.59	A	+13	+13	1	7	14	30	No
P.W.	CBV	2.64	10.98	A	+9	+10	0	2	10	23	No
S.D.	BUCY	2.50	0.42	A	+20	+47	4	20	7	36	No
E.C.	CBT	7.30	1.32	A	+12	+12	2	4	10	24	No
A.J.J.	CBV	2.52	2.77	B	+14	+14	0	4	10	24	Sí(+6)	Cara
A.E.	BUCY	4.82	2.17	B	+12	+46	2	6	10	23	No
C.M.	CBT	6.10	4.82	B	+10	+10	3	6	10	22	No
C.D.	BUCY	2.89	1.77	B	+20	+23	4	6	16	32	Sí(+20)	Tronco/Palmas
G.M.	CBT	5.50	10.59	B	+11	+11	3	4	17	27	Sí(+10)	Tronco
G.N.	Melfalán	1.15	2.36	B	+10	+10	0	4	7	21	No
M.H.	Melfalán	2.08	2.74	B	+18	+18	6	17	14	32	Sí(+13)	Tronco
M.K.	CBV	2.27	0.68	B	+14	+13	2	7	14	30	Sí(+21)	Generalizado
P.G.	CBV	6.12	1.28	B	+18	+22	9	24	16	44	No
R.R.A.	BUCY	5.45	0.86	B	+16	+18	0	4	14	30	Sí(+21)	Tronco/Palmas

TACP: trasplante autólogo de células progenitoras; EICH: enfermedad injerto contra huésped; CMN: número de células mononucleares infundidas expresadas en $10^8/\text{kg}$; Cél.CD34+: número de células CD34+ infundidas expresadas en $10^6/\text{kg}$; GB: día del engraftment de glóbulos blancos; Plaquetas: día del engraftment plaquetario; Sed. glob. unidades y plaquetas unidades: número de unidades de sedimento globular y de plaquetas requeridas durante la hospitalización; ATB: número de días con antibióticos; Hosp.: número de días hospitalizado incluyendo el régimen mieloablativo; CBV: ciclofosfamida, BCNU, etopósido; BUCY: busulfán, ciclofosfamida; CBT: ciclofosfamida, BCNU, tiotepa.

que recibieron CSA 1mg/kg en forma endovenosa (grupos A y B) las biopsias fueron positivas en el 83.3% de las leucemias, 75% de LNH, 66.6% de Ca. Mama, 54.5% de EH, y 37.5% de MM.

Una enfermedad injerto contra huésped aguda en estadios iniciales fue descrita por los patólogos, incluyendo degeneración vacuolar de queratinocitos de la membrana basal, acompañados por una infiltración de mononucleares que comprometía la dermis y la epidermis. El infiltrado fue predominantemente T, expresando el antígeno de membrana CD4 en un 60% (45-75%). Células B fueron infrecuentemente vistas formando parte de los infiltrados epidérmicos o dérmicos.

De las biopsias positivas, 75% fueron grado I y 25% grado II. No se observaron grados III y IV. En 11 casos no hubo coincidencia entre la histopatología y el rash de piel (Tabla 3). 12 pacientes con biopsia de piel positiva para EICH, no tuvieron rash; y en 5 pacientes con rash, la biopsia fue normal.

No hubo diferencia significativa respecto del número de CMN infundidas entre el grupo de pacientes con EICH ($3.95 \pm 2.21 \times 10^8/\text{kg}$) y aquellos que no lo presentaron ($4.06 \pm 2.04 \times 10^8/\text{kg}$).

7 pacientes, 3 del grupo A y 4 del B, presentaron una ligera diarrea al día +7 (5-15) que no necesitó tratamiento. Ninguna otra complicación gastrointestinal o renal fue observada, con la excepción del paciente MS, del grupo A que tuvo una hepatitis grasa inexplicada. 6 pacientes (2 del grupo A, 1 del B, 2 del C y 1 del D) tuvieron episodio de sepsis durante la hospitalización; 4 de ellos (2 pertenecientes al grupo A1 con EICH y el otro sin él, y 2 del C) fallecieron por esta causa. El resto de los pacientes no tuvieron complicaciones infectológicas severas. La media de días con antibióticos fue de 13 (0-28). No se halló diferencia significativa entre los grupos. El número de días de hospitalización fue de 27.5 (A:28.8, B:28.6, C:28.1, D: 27.8) (rango 21-45).

El seguimiento medio de los pacientes fue de 18 meses (3-32). En el análisis global de los pacientes, no se encontró una diferencia respecto a SLE o SG entre el grupo que desarrolló EICH y el resto (Figuras 1 y 2); sin embargo, tomando en cuenta que el mieloma múltiple no expresa CMH clase II y que además es aún considerado una enfermedad en la que no es posible una curación, y excluyendo del análisis el grupo de pacientes con esta afección, se halló una diferencia significativa en la SG de los pacientes con EICH respecto del resto (Fig.3). Concerniente a la SLE, el grupo EICH también demostró una ventaja (no significativa) comparado con los otros pacientes del estudio (Fig. 4).

DISCUSION

La mayor complicación del trasplante autólogo de médula ósea (TAMO) sigue siendo la recaída de la en-

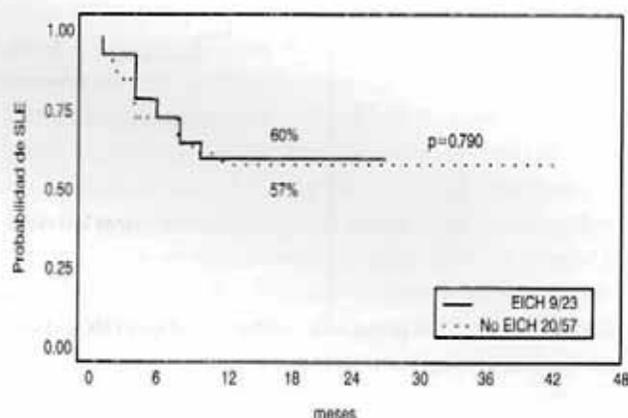


Figura 1. Sobrevida Libre de Enfermedad en todos los pacientes trasplantados del estudio de acuerdo a la presencia de Enfermedad Injerto contra Huésped

Datos de supervivida libre de enfermedad (SLE): la probabilidad de SLE fue expresada en porcentaje (60% vs. 57%) con un seguimiento medio de 18 meses. De 23 pacientes en los cuales la enfermedad injerto contra huésped (EICH) fue detectado, 9 recayeron. En el grupo que no se objetivó EICH (57), la recaída se observó en 20 pacientes.

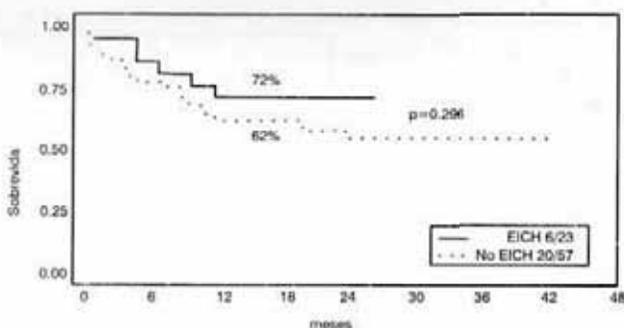


Figura 2. Sobrevida Global en todos los pacientes trasplantados del estudio de acuerdo a la presencia de Enfermedad Injerto contra Huésped

Datos de supervivida global (SG): la probabilidad de SG fue expresada en porcentaje (72% vs 62%) tomada con un seguimiento medio de 18 meses. De 23 pacientes en los cuales la enfermedad injerto contra huésped (EICH) fue detectado, 6 fallecieron. En el grupo que no desarrolló EICH (57), la mortalidad fue 20 individuos.

femenidad, a pesar de la intensificación agresiva usada en los regímenes de acondicionamiento, y de la purga del material usado para la reinfusión. La ausencia de EICH es una de las causales del incremento de las recaídas en este tipo de trasplante, demostrando que también el EICT está ausente [5,13]. Esta observación confirma que EICH y EICT están estrechamente ligados.

EICH luego de TAMO parece ser mediado por linfocitos autorreactivos capaces de reconocer los antígenos del CMH [1,10]. Teniendo en cuenta que la mayoría de las neoplasias malignas expresan CMH clase II (HLA DR), estas neoplasias pueden ser reconocidas y atacadas por los linfocitos T autorreactivos [9].

La CSA ha sido conocida desde hace ya algunos años, por inducir una marcada reducción en el tamaño

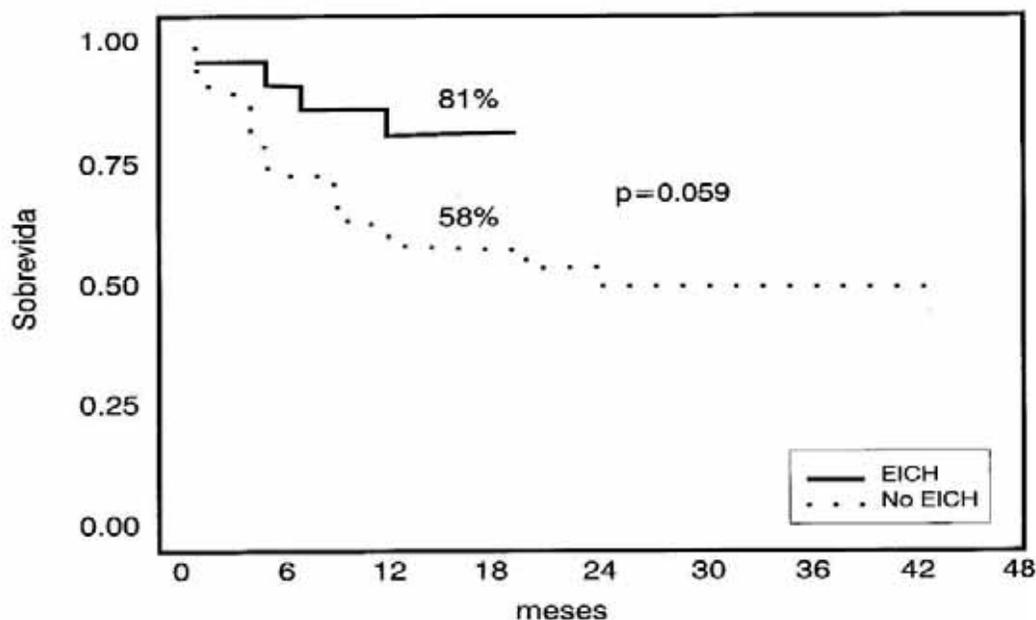


Figura 3. Sobrevida Global en todos los pacientes trasplantados del estudio de acuerdo a la presencia de Enfermedad Injerto contra Huésped (excepto mieloma múltiple)

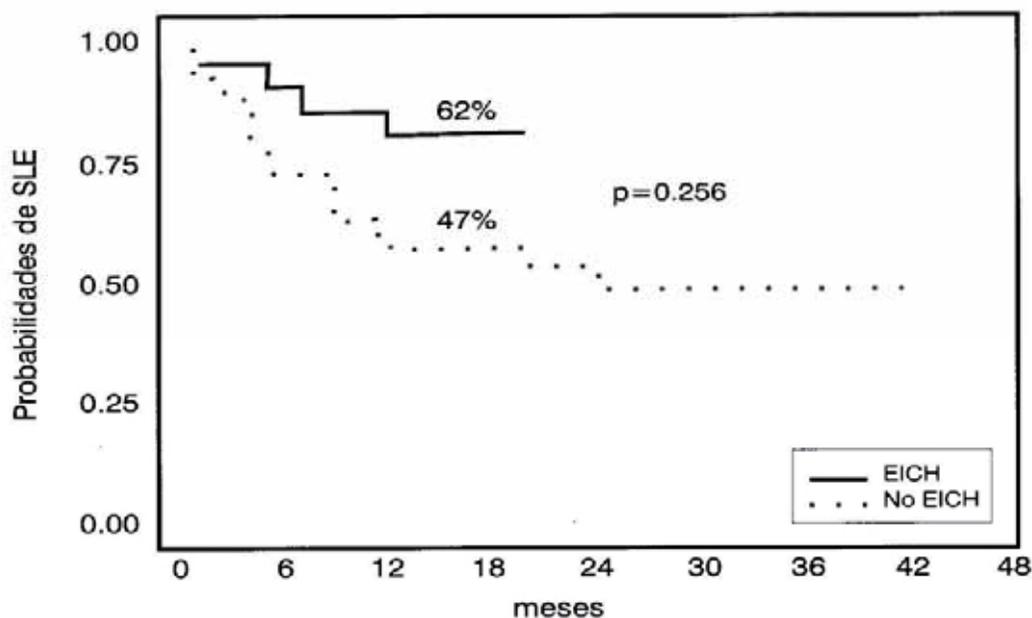


Figura 4. Sobrevida Libre de Enfermedad en todos los pacientes trasplantados del estudio de acuerdo a la presencia de Enfermedad Injerto contra Huésped (excepto mieloma múltiple)

de la médula tímica con un efecto menor sobre el epitelio cortical de ese órgano [3]. Esta alteración puede influenciar la diferenciación timocítica ya que en el epitelio medular expresa CHM clase II [6], llevando a la pérdida de la selección negativa normal; que conduce finalmente, en la salida del timo de linfocitos T autorreactivos capaces de reconocer y destruir células que posean su propias moléculas del CHM en la membrana.

La afección de la piel por EICH luego de la administración de CSA ya fue observada por otros autores [10,12]. De estos resultados y de los propios (grupos A y B de nuestro estudio) podemos confirmar que el efecto es inducido sólo cuando este fármaco es administrado a una dosis de 1mg/kg/d IV. Cabe destacar que el grupo C, que recibió dicha dosis en forma oral, no mostró cambios histológicos en las biopsias de piel. Considerando que la biodisponibilidad de la CSA por

vía oral es menor al 50%, es lógico detectar la mitad de las concentraciones plasmáticas; las cuales parecen ser insuficientes para provocar EICH/EICT.

No está aún determinado cuál es el número mínimo de días de administración de CSA requerido para la inducción farmacológica del EICH. Es conocido sin embargo, que la administración del fármaco lleva a una rápida reducción del tamaño de la médula tímica. Beschoner y colaboradores [3] demostraron que el peso del timo disminuía en un 68% comparado con controles, luego de 7 días de administración de CSA. Por lo tanto, es probable que sólo algunos pocos días de tratamiento sean necesarios para provocar EICH, como se observó en el paciente R.I. del grupo A, quien, a pesar de recibir CSA durante sólo 3 días, desarrolló dicho efecto.

Teóricamente, luego del régimen mioablativo, el tumor se encuentra en su mínima expresión, y sería el mejor momento para dejar que el sistema inmune erradique la enfermedad. Son entonces, los primeros días luego de la intensificación, los más propicios para estimular el sistema inmunológico remanente, obteniéndose de esta manera EICH. Ésta es la razón por la cual los primeros días de CSA tienen una importancia inobjetable. La adición de IFN aumenta aún más la expresión de antígenos del CHM clase I y II en las células normales y tumorales [15], pudiendo así ser reconocidos por los linfocitos T [9]. Por esta razón, consideramos que el comienzo de la terapia con IFN- α 2b debe ser temprano, lo que ayudará a aumentar la inducción de EICH autólogo, ya observada por otros grupos [14]. La dosis diaria de IFN- α 2b, fue bien tolerada por los pacientes del estudio. No se observaron diferencias significativas en el porcentaje EICH en los pacientes que recibieron IFN- α 2b (grupo A) comparado con la administración de CSA sola (grupo B). La incorporación de IFN- α 2b al tratamiento, no incrementó la severidad clínica o histológica del EICH. La duración de la neutropenia o plaquetopenia, no se halló significativamente prolongada en el grupo de pacientes que recibió IFN- α 2b.

La incorporación de rhGM-CSF demostró aumentar la citotoxicidad mediada por células T luego del TAMO, por incrementar la función de las células LAK, lo que sugiere que esta droga jugaría un rol anti-tumoral sobre la enfermedad mínima residual [15]. Estas células también secretan citoquinas tales como IFN γ y factor de necrosis tumoral, que colabora en el aumento de EICH. A pesar de estas ventajas del rhGM-CSF; basados en los grupos C y D de nuestro estudio, podemos afirmar que dicho fármaco, por sí mismo, no produjo reacción injerto contra huésped.

Atribuimos las diferencias en los resultados de inducción de EICH observadas en los grupos de estudio, a la terapia administrada, ya que otros factores impor-

tales como número de CNM infundidas, fue similar en todos los grupos.

Con respecto a las biopsias de piel en las que se detectó EICH autólogo, éstas no mostraron diferencias histológicas con las observadas en el trasplante alogénico tanto en nuestro estudio como el realizado por otros grupos [11]. La biopsias negativas pertenecientes a los pacientes del grupo A y B, o aquellas del grupo C y D, sirvieron de controles negativos. Este punto es muy importante debido a que ha sido descrita una infiltración linfocitaria de piel al momento del engraftment [2], que podría llevar a algunos patólogos a un diagnóstico erróneo de EICH.

En nuestra hipótesis de trabajo, especulamos que la combinación de 3 drogas podría incrementar la reacción injerto contra huésped y así proveer un eficaz efecto injerto contra el tumor. Concerniente a la inducción de EICH, podemos decir que los resultados obtenidos son similares a los publicados por otros autores [11, 13]. En relación al análisis de sobrevida, tanto la SLE como la SG no mostraron diferencias significativas entre todos los pacientes que desarrollaron EICH y aquéllos en los que no se observó el efecto (Figuras 1 y 2). Sin embargo, teniendo en cuenta que el MM no expresa habitualmente los antígenos de membrana del CMH clase II (condición indispensable para el desarrollo de EICH/EICT), se excluyeron del análisis global los pacientes con esta afección, obteniéndose diferencias en la SLE y la SG a favor de los pacientes que desarrollaron EICH sobre el resto. La ventaja de ese grupo fue especialmente significativa respecto de la SG que resultó de 81% vs 58% ($p=0.05$) (Fig.4).

Los resultados obtenidos deben ser confirmados por un seguimiento a largo plazo de estos pacientes y por el desarrollo de otros estudios sobre este aspecto.

CONCLUSIONES

Provocar la enfermedad injerto contra huésped autólogo fue posible en el 58% de los pacientes que recibieron CSA 1 mg/kg/día c.v. durante 28 días.

La terapia utilizada no produjo retardo en el engraftment de neutrófilos o plaquetas, como tampoco incrementó la incidencia de infecciones o complicaciones gastrointestinales o renales en los pacientes tratados.

A excepción del MM, la inducción de EICH en el trasplante autólogo, prolongó significativamente la sobrevida global de los pacientes de nuestro estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. Baskar S, Ostrand-Rosenberg S. MHC class II- Transfected tumor cells induce long-term tumor specific immunity in autologous mice. *Cellular Immunology*. 1994; 155: 123-133.

2. Bauer DJ, Hood AE, Horn TD. Histologic comparison of autologous graft-vs-host reaction and cutaneous eruption of lymphocyte recovery. *Arch Dermatol.* 1993; 129: 855-858.
3. Berschorner WE, Namnoum JD, Hess AD, Shinn CA, Santos GW. Cyclosporin A and the thymus. *Am J Pathol.* 1987; 126: 487-496.
4. Foon KA, Todd RE. Immunologic classification of leukemia and lymphoma. *Blood.* 1989; 68:1- 31.
5. Gale RP, Champlin RE. How does bone marrow transplantation cure leukemia?. *Lancet.* 1984; ii:28-30.
6. Geller RB, Esa AH, Beschorner WE, Frondoza CG, Santos GW, Hess AD. Successful in vitro graft-versus tumor effect against an Ia bearing tumor using cyclosporine induced syngeneic graft versus host disease in the Rat. *Blood.* 1989; 74, 3: 1165-1171.
7. Giunta M, Favre A, Ramarli D, Grossi CE, Corte CE, Corte G. A novel, integrin involved in thymocyte-thymic epithelial cell interactions. *J Exp Med.* 1991; 173: 1537-1548.
8. Gressler VH, Weinkauff RE, Franklin WA, Golomb HM. Modulation of the expression of major histocompatibility antigens on splenic hairy cells-differential effect upon in vitro treatment with alpha-2b-interferon, gamma-interferon and interleukin-2. *Blood.* 1988; 72: 1048-1053.
9. Hess AD, Horwitz L, Beschorner WE, Santos GW. Development of graft vs. host disease like syndrome in cyclosporine treated rats after syngeneic bone marrow transplant. *J Exp Med.* 1985; 161: 718-30.
10. Hood AE, Santos GW. Acute graft-versus-host disease development following autologous and syngeneic bone marrow transplantation. *Arch. Dermatol.* 1987; 123: 745-750.
11. Horn TD, Altomonte V, Vogelsang G, Kennedy MJ. Erythroderma after autologous bone marrow transplantation modified by the administration of cyclosporine and interferon gamma for breast cancer. *J Am Acad Dermatol.* 1996; 34 (3): 413-417.
12. Jones RJ, Hess AD, Mann RB, Piantadosi S, Vogelsang GB, Farmer ER, Geller RB, Santos GW. Induction of graft versus host disease after autologous bone marrow transplantation. *Lancet.* 1989; i: 754-757.
13. Kersey JH, Weisdorf D, Nesbit ME. Comparison of autologous and allogeneic bone marrow transplantation for treatment of high-risk refractory acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 1987; 317: 461-467.
14. Ratanatharathorn V, Uberti J, Karanes C, Lum LG, Abella E, Dan ME, Hussein M, Sersenbrenner LL. Phase I study of alpha interferon augmentation of CSA-induced GVHD in recipients of ABMT. *BMT.* 1994; 13: 625-630.
15. Richard C, Alsar MJ, Calavia J, Bello-Fernandez C, Baro J, Loyola I, Rios R, Cuadrado MA, Gonzalez-Pardo C, Iriondo A, Conde E, Zubizarreta A. Recombinant human GM-CSF enhance T cell-mediated cytotoxic function after ABMT for hematological malignancies. *BMT.* 1993; 11: 473-478.