

Quimioterapia intensiva con 1-3 fármacos y soporte con células mielopoyéticas autólogas extraídas de la sangre periférica: resultados preliminares

M. Sureda / S. Martín Algarra / I. Henríquez / J. Rebollo / J. Vieitez / J. Aristu

Departamento de Oncología. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona.

RESUMEN

Se han tratado 14 pacientes con diferentes tumores sólidos con quimioterapia a altas dosis, seguida de soporte con células mielopoyéticas autólogas extraídas de la sangre periférica. Se han efectuado un total de 15 procedimientos. Se obtuvieron $4,5-7-10^{10}$ células mononucleares mediante leucoféresis con un separador celular de flujo continuo CS-3.000. Las células se mantuvieron en medio de cultivo durante 3-5 días previamente a la infusión.

La quimioterapia consistió en la administración de 1-3 de los siguientes agentes: CPA 80 mg/kg; VP-16, 800 mg/m²; BCNU 700-800 mg/m²; CBDCA 1.000 mg/m². Las células fueron infundidas 48 horas después de finalizar la quimioterapia. Los pacientes estuvieron hospitalizados en habitación individual, con pauta antibiótica profiláctica que incluyó gentamicina, piperacilina, vancomicina y anfotericina b durante el período de aplasia.

Actualmente la respuesta es evaluable en cinco tratamientos y la toxicidad es evaluable en todos ellos. Las respuestas han sido: 2 respuestas completas y 3 respuestas parciales. Todos los pacientes entraron en aplasia, con 12 infecciones (73 %), 8 hemorragias (53 %), 4 diarreas (27 %), 2 estomatitis (13 %), 3 insuficiencias renales (16 %).

Conclusiones:

1. La recuperación de la médula ósea tras quimioterapia a altas dosis puede ser acertada mediante soporte con células mielopoyéticas autólogas extraídas de la sangre periférica.
2. Dichas células mantienen su viabilidad con técnicas de cultivo standard, sin necesidad de congelación.

High dose chemotherapy (1-3 agents) with autologous peripheral blood stem-cell (APBSC) support. Preliminary results.

M. Sureda / S. Martín Algarra / I. Henríquez / J. Rebollo / J. Vieitez / J. Aristu

SUMMARY

Fourteen patients with different solid tumors have been treated with high-dose combination chemotherapy followed by autologous PBSC support. A total of 15 procedures have been done. $4,5-7 \times 10^{10}$ mononuclear cells were obtained through 1-4 leukopheresis using a CS-3.000 continuous flow blood cell separator. Cells were maintained in standard culture conditions for 3-5 days prior to infusion.

Chemotherapy consisted in the administration of 1-3 agents: CPA 80 mg/kg; VP-16, 800 mg/m²; BCNU 700-800 mg/m², CBDCA 1.000 mg/m². APBSC were infused 48 hours after the last chemotherapy was given. Patients were maintained in single bed rooms with standard prophylactic antibiotics, including gentamycin, piperacillin, vancomycin and amphotericin B during the period of aplasia.

Currently 5 procedures are available for response and all patients are evaluable for toxicity. Responses have been: 2 complete responses and 3 partial response. All patients entered in aplasia, with 12 infections (73 %), 8 bleeding (53 %), 4 diarrhea (27 %), 2 stomatitis (13 %) and 3 renal failure (16 %).

Conclusions:

1. Bone marrow recovery after high dose chemotherapy can be shortened with APBSC support.
2. APBSC can be safely maintained using standard culture techniques, thus avoiding the freezing procedure.

INTRODUCCIÓN

El trasplante alogénico de médula ósea ha sido empleado con éxito en el tratamiento de leucemias y linfomas. En la leucemia mieloide aguda en primera remisión la probabilidad de alcanzar una supervivencia libre de enfermedad (SLE) superior a tres años se sitúa entre el 48 % y el 61 % con trasplante alogénico frente a 16 %-26 % con quimioterapia solamente ¹⁻³. En la leucemia mieloide crónica la quimioterapia convencional ha logrado un 15 % de SLE a los 7 años, cifra similar a la obtenida con trasplante en fase blástica, y notablemente inferior a la de trasplante en fase crónica (SLE a los 7 años, 64 %) ^{4,5}. En la leucemia linfocítica aguda en primera remisión la SLE a los 5 años ha alcanzado el 64 % con trasplante alogénico ⁶, y en segunda remisión el 30 % mientras la SLE obtenida con quimioterapia en casos recidivados no alcanza el 10 % ⁷⁻¹⁰.

Recientemente se ha aprovechado el mismo principio de tratamiento para administrar dosis altas de quimioterapia con trasplante autólogo de médula ósea en el tratamiento de tumores sólidos. El mayor número de pacientes así tratados corresponde a linfomas no Hodgkin recidivados o resistentes a quimioterapia convencional, obteniéndose SLE superior a 2 años entre 20 % y 50 % de los pacientes ^{9, 10}. En linfoma de Hodgkin recidivado o resistente a quimioterapia el porcentaje de SLE tras el procedimiento oscila entre el 46 % y el 69 % ¹¹⁻¹³.

Otro de los tumores sólidos donde se ha obtenido eficacia ha sido el neuroblastoma. Los resultados en estadio IV han sido de 50 % de SLE a 24 meses, recibiendo trasplante únicamente los pacientes con respuesta a la quimioterapia convencional ^{14, 15}.

Se ha investigado el efecto de las dosis altas de quimioterapia y trasplante autólogo de médula ósea en otros tumores. Nichols et al han presentado 3/32 pacientes con SLE > 1 año en tumores germinales previamente tratados con regímenes quimioterápicos que incluían cisplatino ¹⁶. El carcinoma de mama metastásico ha presentado tasas de respuestas completas entre 30 % en el tumor resistente y el 70 % en pacientes en respuesta a pautas habituales de citostáticos ¹⁷⁻¹⁹. Spitzer y cols han comunicado una serie de 5 de 13 pacientes con SLE superior a 4 años en carcinoma pulmonar de células pequeñas con enfermedad limitada, en los que el trasplante se efectuó tras alcanzar respuesta completa ²⁰, resultado no logrado con enfermedad diseminada, en la que no hay, hasta el momento, mejoría significativa de la supervivencia ^{21, 22}.

También se han tratado tumores resistentes a los citostáticos. En carcinoma de colon metastásico la tasa de remisión observada ha sido 45 %, con 3 respuestas completas entre los 20 pacientes que recibieron melfalán a altas dosis seguido de trasplante autólogo ²³. El glioma maligno en progresión ha presentado 44 % de remisiones utilizando BCNU a altas dosis previo al trasplante ²⁴. El melanoma es otro de los tumores tratados con esta técnica, con porcentaje de respuestas entre 43 % y 88 %, si bien la supervivencia máxima fue de 17 meses desde el tratamiento ^{25, 26}.

La obtención de células progenitoras ("stem-cells") mielopoyéticas mediante aféresis de sangre periférica ha facilitado considerablemente la técnica del trasplante con resultados equivalentes a los obtenidos con trasplante de médula ósea. La experiencia

clínica obtenida hasta el momento con esta modalidad se refiere casi exclusivamente a leucemias, linfomas y mieloma múltiple ²⁷⁻³³.

Se presentan los datos preliminares de una serie de pacientes con diversos tumores sólidos tratados con altas dosis de poliquimioterapia y soporte de "stem cells" obtenidas de sangre periférica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el procedimiento de aféresis se ha utilizado un separador de células de flujo continuo Fenwall CS 3.000. En cada sesión se han procesado 6-10 l de sangre, a un flujo variable entre 20 y 75 ml/min. El número total de células mononucleares obtenidas ha sido de $4,5-7 \times 10^{10}$, ejecutándose el número de procedimientos necesario (1-4) hasta alcanzar dicha cifra.

Tras la extracción y recuento, las células se han cultivado en RPMI 1640 enriquecido con 5 % de suero humano AB, a una concentración de 2×10^6 células/ml. A dicho medio se ha añadido gentamicina (200 mg/l), penicilina (10 UI/l) y estreptomycin (1 mg/l). El tiempo de cultivo ha oscilado entre 3 y 5 días, durante los cuales la suspensión celular se introdujo en bolsas de PL 732, material plástico permeable a gases e impermeable a líquidos, de 3 L., almacenadas en una estufa de cultivo a 37° C, en 5 % de CO₂, 21 % de O₂ y saturación de vapor de agua.

Han sido seleccionados para recibir tratamiento a altas dosis y soporte hematológico pacientes con tumores sensibles a quimioterapia, con criterios de mal pronóstico y que cumplieran además los siguientes requisitos: edad inferior a 60 años, índice de Karnofsky igual o superior al 60 %, SGOT y SGPT por debajo de 30 mU/ml, urea inferior a 50 mg %, bilirrubina inferior a 1,2 mg %, creatinina inferior a 1,1 mg %, cifra de leucocitos superior a 3.000/mm³ y plaquetas superior a 100.000/mm³. Previamente al comienzo se ha realizado historia clínica detallada, examen físico, control de lesiones seguíbles por TAC, determinación de pruebas de función hepática y renal, hemograma y marcadores tumorales.

Tras alcanzarse en sucesivas aféresis el número de células deseado se ha administrado la quimioterapia con 1-3 fármacos a dosis altas, dividida en dos dosis, con doce horas de intervalo entre ellas. Los agentes empleados han sido: ciclofosfamida (80 mg/kg), etopósido (800 mg/m²), carmustina (700-800 mg/m²), carboplatino (1.000 mg/m²) y cisplatino (100 mg intraarterial en dosis única). A las 48 horas de finalizar la quimioterapia se han infundido las células mononucleares obtenidas por aféresis. La hospitalización se ha llevado a cabo en habitación individual desde el ingreso hasta la salida de aplasia. Al comenzar el descenso de la cifra de leucocitos, se ha instaurado antibioterapia profiláctica con: piperacilina IV 3g/6 h, gentamicina IV 80 mg/8 h, vancomicina IV 500 mg/8 h, anfotericina B IV 0,5 mg/kg/d y nistatina oral. Se han transfundido unidades de plaquetas cuando se han presentado síntomas hemorrágicos o el recuento ha sido inferior a 30.000/mm³.

Se ha considerado como día 0 del procedimiento el día de reinfusión de células. Como criterio de recuperación de aplasia se han utilizado las cifras de 500 neutrófilos y 20.000 plaquetas/mm³.

La evaluación de respuesta se ha efectuado un mes después de la recuperación de la aplasia. Se ha considerado como respuesta completa la desaparición de toda evidencia previa de tumor, clínica, analítica y radiológica, y como respuesta parcial la disminución del 50 % en el tamaño de las lesiones seguibles por TAC y la disminución proporcional de los marcadores tumorales cuando han sido previamente positivos.

RESULTADOS

Se han efectuado un total de 15 tratamientos a 14 pacientes, cuyas características figuran en la Tabla I. Los 4 tratamientos aplicados en situación de progresión tumoral corresponden a un carcinoma de testículo recidivado tras recibir todos los agentes eficaces a dosis convencionales y tres gliomas, dos de ellos tras exéresis parcial y el tercero tras radioterapia radical.

De los 5 tratamientos evaluables (Tabla II), en dos se obtuvo respuesta completa, con desaparición de toda evidencia previa de tumor (histológica, radiológica, clínica y analítica). En los tres restantes se constató disminución del tamaño de las lesiones previas y marcadores tumorales superior al 50 % en el caso del tumor testicular y desaparición macroscópica del tumor en el caso del neuroblastoma (con residuo microscópico observado histológicamente). Los considerados no evaluables lo han sido en razón de la no evidencia de enfermedad en el momento del tratamiento o por no haber transcurrido tiempo suficiente para la correcta evaluación tras la finalización del mismo.

Las infecciones han constituido la manifestación más frecuente de toxicidad, con 12 episodios (73 %). De ellas 4 han correspondido a *Staph. epidermidis*, 2 a otras bacterias, 4 a *Candida* spp., 1 a *Aspergillus* spp. y 1 a virus herpes simple. Los episodios hemorrágicos han sido 8 (53 %), precisándose por término medio 3 días de transfusión de plaquetas (de 0 a 16). Otras manifestaciones de toxicidad han sido: diarreas en 4 pacientes (27 %), estomatitis en 2 (13 %), e insuficiencia renal en 3 casos (16 %), uno de los cuales requirió diálisis.

La aplasia comenzó en una mediana de 3,5 días (entre el 2 y 12); el comienzo de la recuperación se produjo el día 18,5 (entre el 9 y 59). La cifra de 500 neutrófilos/mm³ se alcanzó el día 24 (entre el 15 y 44) y la de 20.000 plaquetas/mm³ el día 22 (entre el 15 y 34).

DISCUSIÓN

El método aquí descrito introduce la conservación de las células en medio de cultivo. La verificación de viabilidad previa a la reinfusión ha permitido observar porcentajes de viabilidad superiores al 95 %. La recuperación de la mielopoyesis, que ocurre a los 22-24 días, se corresponde con el implante del injerto según las series de la literatura (hasta 25 días). La recuperación tardía observada en un caso (40 días), corresponde a un fallo

del injerto obteniéndose la recuperación a partir de células hemopoyéticas residuales tras la quimioterapia intensiva.

La protección antibiótica utilizada es bien tolerada. El empleo de anfotericina B hace preciso el estricto control de la hipokaliemia con aportes suplementarios de potasio en la fluidoterapia según ionograma diario. La administración de 125 mg de metilprednisolona y 10 mg de dexclufeniramina por vía endovenosa previamente a cada dosis evita la aparición de hipertermia y escalofríos.

El coste final del procedimiento se halla notablemente disminuido con respecto a la técnica convencional, a expensas de la hospitalización en habitación individual sin necesidad de ambiente estéril controlado y la conservación de stem cells en medio de cultivo sin necesidad de los medios técnicos que precisa la congelación en nitrógeno líquido.

La línea de aplicación inicial del programa, definida como consolidación de respuestas en tumores relativamente sensibles, no curables con dosis convencionales de quimioterapia, parece aplicable a diversos tumores sólidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mayer RJ. Allogenic transplantation versus intensive chemotherapy in first-remission acute leukemia: is there a "best choice?". *J Clin Oncol* 6: 1.532-1.536, 1988.
2. International bone marrow transplant registry: Transplant or chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *Lancet* 1.119-1.122, 1989.
3. Reiffers J, Gaspard MH, Maraninchi D, et al. Comparison of allogenic or autologous bone marrow transplantation, and chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia in first remission: a prospective controlled trial. *Br J Haematol* 72: 57-63, 1989.
4. Sokal JE, Baccarani M, Tura S, et al. Prognostic discrimination among younger patients with chronic granulocytic leukemia: relevance to bone marrow transplantation. *Blood* 66: 1.352-1.357, 1985.
5. Thomas ED y Clift RA. Indications for marrow transplantation in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 73: 861-864, 1989.
6. Brochtein JA, Kerenan NA, Groshen S, et al. Allogenic marrow transplantation, after hyperfractionated total body irradiation and cyclophosphamide in children with acute leukemia. *N Eng J Med* 317: 1.618-1.624, 1987.
7. Woods WG, Nesbit ME, Ramsay NKC, et al. Intensive therapy followed by bone marrow transplantation for patients with acute lymphocytic leukemia in second or subsequent remission: determination of prognostic factors. *Blood* 61: 1.182-1.189, 1983.
8. Johnson FL, Thomas ED, Clark BS, et al. A comparison of marrow transplantation with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukemia in second or subsequent remission. *N Eng J Med* 305: 846-851, 1981.
9. Phillips GL, Herzig RH, Lazarus HM, et al. Treatment of resistant malignant lymphoma with cyclophosphamide, total body irradiation, and transplantation of cryopreserved autologous marrow. *N Eng J Med* 310: 1.557-1.561, 1984.

10. Braine HG, Santos GW, Kaizer H, et al. Treatment of poor prognosis non-Hodgkin's lymphoma using cyclophosphamide and total body irradiation regimens with autologous bone marrow rescue. *Bone Marrow Transplant* 2: 7-14, 1987.
11. Zulian GB, Selby P, Milan S, et al. High dose melphalan, BCNU and etoposide with autologous bone marrow transplantation for Hodgkin's disease. *Br J Cancer* 59: 631-635, 1989.
12. Gribben JG, Linch DC, Singer CRJ, et al. Successful treatment of refractory Hodgkin's disease by high-dose combination chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *Blood* 73: 340-344, 1989.
13. Phillips GL, Wolff SN, Herzog RH, et al. Treatment of progressive Hodgkin's disease with intensive chemoradiotherapy and autologous bone marrow transplantation. *Blood* 73: 2.086-2.092, 1989.
14. Philip T, Bernard JL, Zucker JM, et al. High-dose chemoradiotherapy with bone marrow transplantation as consolidation treatment in neuroblastoma: an unselected group of stage IV patients over 1 year of age. *J Clin Oncol* 5: 266-271, 1987.
15. Hartmann O, Benhamou E, Beaujean F, et al. Repeated high-dose chemotherapy followed by purged autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy in metastatic neuroblastoma. *J Clin Oncol* 5: 1.205-1.211, 1987.
16. Nichols CR, Tricot G, William SD, et al. Dose-intensive chemotherapy in refractory germ cell cancer. A phase I/II trial of high-dose carboplatin and etoposide with autologous bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 7: 932-939, 1989.
17. Eder PJ, Antman K, Peters W, et al. High-dose combination alkylating agent chemotherapy with autologous bone marrow support for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 4: 1.592-1.597, 1986.
18. Antman K y Gale RP. Advanced breast cancer: high dose chemotherapy and bone marrow autotransplants. *Ann Intern Med* 108: 570-574, 1988.
19. Frei III E, Antman K, Teicher B, et al. Bone marrow autotransplantation for solid tumors-Prospects. *J Clin Oncol* 7: 515-526, 1989.
20. Spitzer G, Farha P, Valdivieso M, et al. High-dose intensification therapy with autologous bone marrow support for limited small-cell broncogenic carcinoma. *J Clin Oncol* 4: 4-13, 1986.
21. Humblet Y, Symann M, Bosly A, et al. Late intensification chemotherapy with autologous bone marrow transplantation in selected small-cell carcinoma of the lung: a randomized study. *J Clin Oncol* 5: 1.864-1.873, 1987.
22. Ihde DC, Deisserath AB, Lichter AS, et al. Late intensive combined modality therapy followed by autologous bone marrow infusion in extensive-stage small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 4: 1.443-1.454, 1986.
23. Leff RS, Thompson JM, Johnson DB, et al. Phase II trial of high-dose melphalan and autologous bone marrow transplantation for metastatic colon carcinoma. *J Clin Oncol* 4: 1.586-1.591, 1986.
24. Phillips GL, Wolff SN, Fay JW, et al. Intensive 1,3-bis (2-chloroethyl)-1-nitrosurea (BCNU) monochemotherapy and autologous marrow transplantation for malignant glioma. *J Clin Oncol* 4: 639-645, 1986.
25. McElwain TJ, Hedley DW, Burton G, et al. Marrow autotransplantation accelerates haematological recovery in patients with malignant melanoma treated with high-dose melphalan. *Br J Cancer* 40: 72-80, 1979.

26. Cornbleet MA, McElwain TJ, Kumar PJ, et al. Treatment of advanced malignant melanoma with high-dose melphalan and autologous bone marrow transplantation. *Br J Cancer* 48: 329-334, 1983.
27. Juttner CA, To LB, Haylock DN, et al. Circulating autologous stem cells collected in very early remission from acute non-lymphoblastic leukemia produce prompt but incomplete haemopoietic reconstitution after high dose melphalan or supralethal chemoradiotherapy. *Br J Haematol* 61: 739-745, 1985.
28. Korbling M, Dorken B, Ho AD, et al. Autologous transplantation of blood-derived hemopoietic stem cells after myeloablative therapy in a patient with Burkitt's lymphoma. *Blood* 67: 529-532, 1986.
29. Kiesel S, Pezzuto A, Moldenhauer G, et al. B-cell proliferative and differentiative responses after autologous peripheral blood stem cell or bone marrow transplantation. *Blood* 72: 672-678, 1988.
30. Korbling M, Baumann M, Holdermann K, et al. Autologous blood stem cell transplantation in patients with a poor prognosis Hodgkin's disease and prior radiation to the pelvic site. Proc of the XV annual meeting of the EBMT, n.° 135, 1989.
31. Reiffers J, Henon P, Douay L, et al. Autologous blood stem cell transplantation in acute myeloid leukemia in first or second complete remission. Proc of the XV annual meeting of the EBMT, n.° 138, 1989.
32. Reiffers J, Marit G, Trouette R, et al. Autologous blood stem cell or bone marrow transplantation in Ph1-positive chronic myeloid leukemia: a report of 50 cases. Proc of the XV annual meeting of the EBMT, n.° 139, 1989.

Tabla I. Características de los pacientes	
TOTAL PACIENTES	14 (15)
SEXO	
M	11
F	3
EDAD	
M	41
Límites	(3 – 67)
KARNOFSKY	
M	70
Límites	(60 – 100)
HISTOLOGÍA	
Glioma	7
Linfoma no Hodgkin	2
Ca. microcítico pulmón	1
Carcinoma de ovario	1
Neuroblastoma	1
Linfoma de Hodgkin	1
Ca. testículo	1
TRATAMIENTO PREVIO	
Cirugía	10
Radioterapia	6
Quimioterapia	7
SITUACIÓN TUMORAL	
NED / RC	5
Enf. residual	6
Progresión	4

Tabla II		
Resultados	n.º	Tumores
RC	2	Burkitt, ovario
RP	3	Neuroblastoma, testículo
NE		
NED	1	Ca. microcítico pulmón
NE	9	Gliomas, LNH, Hodgkin