

# VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

## Facultad de Medicina y Odontología

### Departamento de Medicina

#### Programa de Doctorado en Medicina



**CARACTERIZACIÓN CLÍNICA, HISTOLÓGICA Y BIOLÓGICA DE LA  
ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED CUTÁNEA AGUDA Y CRÓNICA**

## **TESIS DOCTORAL**

**Presentada por:**

**Paula Molés Poveda**

**Dirigida por:**

**Prof. Dr. Rafael Botella Estrada**

**Dr. Jaime Sanz Caballer**

Julio de 2023, Valencia





VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Departament de Medicina

**D. RAFAEL BOTELLA ESTRADA**, Doctor en Medicina y Cirugía, Catedrático de Dermatología en la Universitat de València y Jefe de Servicio de Dermatología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe.

**D. JAIME SANZ CABALLER**, Doctor en Medicina y Cirugía, Profesor Asociado del Departamento de Medicina de la Universitat de València, y Facultativo adjunto del Servicio de Hematología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe.

**CERTIFICAN:**

Que la tesis doctoral titulada: **“Caracterización clínica, histológica y biológica de la enfermedad de injerto contra huésped cutánea aguda y crónica en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos”**, ha sido realizada bajo nuestra dirección por **Dña. Paula Molés Poveda**, Licenciada en Medicina y Cirugía, y reúne a nuestro juicio condiciones suficientes para su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente para optar al grado de **Doctor en Medicina por la Universitat de València**.

Y para que así conste, a todos los efectos oportunos, expiden y firman el presente certificado en Valencia, a 11 de julio de 2023.

Fdo.: Prof. Rafael Botella Estrada

Fdo.:Dr. Jaime Sanz Caballer



A mis padres

A Aitana



## AGRADECIMIENTOS

Después de 8 años de trabajo, muchas personas han participado de alguna manera en la elaboración de esta tesis. A todas ellas, quisiera mostrar mi agradecimiento.

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores de tesis. Al Prof. Rafael Botella, por confiar en mí, brindarme la oportunidad de emprender este proyecto y por poner todos los medios necesarios a mi alcance. Al Dr. Jaime Sanz, por su paciencia, por sus enseñanzas y por sus consejos en la concepción y elaboración de este trabajo de investigación. Al Prof. Miguel Ángel Sanz, por su ayuda desinteresada y gran sabiduría, por ser sencillamente inasequible al desaliento, su ayuda en la elaboración de esta tesis ha sido inestimable.

Especialmente, quisiera agradecer su participación a los pacientes y sus familiares, por el respeto y cariño que muestran y por contribuir de forma altruista a la investigación.

No habría sido posible la realización de este trabajo sin la colaboración de todos los miembros de los Servicios donde se ha llevado a cabo, en especial el Servicio de Dermatología y el Servicio de Hematología del Hospital Universitari y Politècnic La Fe de Valencia. Tan importantes han sido médicos adjuntos, residentes, personal de investigación, personal de enfermería, como personal administrativo. Todos ellos, con su trabajo diario, han posibilitado la realización de este proyecto. A Blanca de Unamuno, por su ayuda a iniciarme en el mundo de la investigación y por su compañerismo a lo largo de los años. A Natalia Chaparro, por trabajar conmigo en el proyecto y contagiarme su alegría y a Inma Azorín, por su buena disposición a ayudar.

A todo el personal del Laboratorio de Diagnóstico Hematológico y del Laboratorio de Citometría de Flujo, por su amabilidad y cariño. Especial agradecimiento a Lourdes Cordón, por enseñarme, por su dedicación y por haberme ayudado siempre que lo he necesitado.

A la Dra. Empar Mayordomo, por colaborar con el proyecto y por hacer ameno el día a día.

A todo el personal del Laboratorio de Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, en especial a la Dra. Regina Rodrigo, por enseñarme y dedicarme su tiempo y a Lorena Olivares, por su compañerismo.

Al todo el personal del Biobanco.

A Toni Almodovar Escuder, por su valiosa ayuda para diseñar la base de datos y Elier Sánchez Infantes, el mejor profesor de Access®.

A mis amigas, Alejandra, Daniela y Bea, por celebrar los buenos momentos y acompañarme en los malos.

Mi mayor agradecimiento es para mi familia. A mis padres, por darme la vida y la educación que he tenido, todo lo que he necesitado, por transmitirme el valor del esfuerzo que me ha permitido llegar hasta aquí, por sus constantes ánimos y apoyo incondicional y por estar siempre dispuestos a ayudar para que pueda desarrollarme profesionalmente. A mi hermana, por su eterna comprensión, por sus consejos y ayuda y por estar siempre a mi lado. A mis abuelos, tíos y primos, por su incondicional cariño. A mis suegros, por acogerme.

A Pau, por acompañarme en este largo recorrido. A Aitana, por el tiempo que esta tesis le ha robado y por la sonrisa que me regala a diario.



## BECAS DE APOYO

La presente Tesis Doctoral ha sido realizada gracias a la concesión de las siguientes ayudas financieras y becas:

- **Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitari y Politènic La Fe** por la concesión del contrato de pos-residencia para el desarrollo del proyecto “Caracterización clínica, histológica y biológica de la enfermedad de injerto contra huésped cutánea aguda y crónica” (2015/0369).
- **La Conselleria de Educación, Cultura y Deporte de la Generalitat Valenciana** por la concesión de la ayuda a Proyectos de I+D para grupos de investigación emergentes GV/2016, para el proyecto “Caracterización clínica, histológica y biológica de la enfermedad de injerto contra huésped cutánea aguda y crónica” (GV/2016/066).
- **5ª Edición del Premio “Dermatólogos del Corazón” 2017** por la Fundación la Roche Posay.
- **Beca de Adjunto de la Academia de Dermatología y Venereología** para estancia de formación en el extranjero, 2017.
- **Beca de Adjunto de la Sección Territorial Valenciana de Dermatología y Venereología** para estancia de formación en el extranjero, 2018.



# ÍNDICE TEMÁTICO

|                                                                |       |
|----------------------------------------------------------------|-------|
| AGRADECIMIENTOS.....                                           | VII   |
| BECAS DE APOYO.....                                            | IX    |
| ÍNDICE TEMÁTICO.....                                           | XI    |
| ÍNDICE DE TABLAS.....                                          | XVII  |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....                                         | XXIII |
| GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....                                  | XXVII |
| 1. INTRODUCCIÓN.....                                           | 1     |
| 1.1. TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS..... | 3     |
| 1.1.1. Concepto y definición.....                              | 3     |
| 1.1.2. Tipos de TPH alogénico.....                             | 3     |
| 1.1.3. Indicaciones de TPH alogénico.....                      | 4     |
| 1.1.4. Procedimiento del TPH alogénico.....                    | 7     |
| 1.1.5. Reconstitución inmune postrasplante.....                | 8     |
| 1.1.6. Complicaciones del TPH.....                             | 9     |
| 1.1.6.1. Complicaciones infecciosas.....                       | 9     |
| 1.1.6.1.1. Infecciones bacterianas.....                        | 9     |
| 1.1.6.1.2. Infecciones fúngicas.....                           | 10    |
| 1.1.6.1.3. Infecciones virales.....                            | 10    |
| 1.1.6.1.4. Otras infecciones.....                              | 10    |
| 1.1.6.2. Toxicidad farmacológica.....                          | 10    |
| 1.1.6.3. Complicaciones inmunológicas.....                     | 12    |
| 1.1.6.4. Síndromes de origen endotelial pos-TPH.....           | 13    |
| 1.1.6.5. Complicaciones a largo plazo.....                     | 14    |
| 1.1.6.6. Segundas neoplasias.....                              | 14    |
| 1.1.7. Recaída.....                                            | 15    |
| 1.1.8. Pronóstico del TPH.....                                 | 15    |
| 1.2. ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED.....                    | 16    |
| 1.2.1. Introducción.....                                       | 16    |
| 1.2.2. Clasificación.....                                      | 16    |
| 1.2.3. Enfermedad injerto contra huésped aguda.....            | 18    |
| 1.2.3.1. Fisiopatología de la EICH aguda.....                  | 18    |
| 1.2.3.2. Epidemiología y factores de riesgo.....               | 21    |
| 1.2.3.3. Manifestaciones clínicas y gravedad por órganos.....  | 23    |

|            |                                                               |    |
|------------|---------------------------------------------------------------|----|
| 1.2.3.4.   | Gradación global y pronóstico de la EICH aguda .....          | 25 |
| 1.2.3.5.   | Métodos de diagnóstico .....                                  | 31 |
| 1.2.3.6.   | Biomarcadores de EICH aguda.....                              | 32 |
| 1.2.3.6.1. | Biomarcadores de EICH cutánea .....                           | 36 |
| 1.2.3.7.   | Medidas preventivas .....                                     | 39 |
| 1.2.3.8.   | Tratamiento de la EICH aguda.....                             | 41 |
| 1.2.4.     | Enfermedad injerto contra huésped crónica .....               | 48 |
| 1.2.4.1.   | Fisiopatología de la EICH crónica .....                       | 48 |
| 1.2.4.2.   | Epidemiología y factores de riesgo .....                      | 49 |
| 1.2.4.3.   | Manifestaciones clínicas .....                                | 50 |
| 1.2.4.4.   | Métodos de diagnóstico .....                                  | 53 |
| 1.2.4.5.   | Gradación global y pronóstico de la EICH crónica.....         | 58 |
| 1.2.4.6.   | Biomarcadores de EICH crónica .....                           | 62 |
| 1.2.4.7.   | Medidas preventivas .....                                     | 64 |
| 1.2.4.8.   | Tratamiento de la EICH crónica .....                          | 65 |
| 1.2.4.9.   | Evaluación de la respuesta al tratamiento .....               | 68 |
| 1.2.5.     | Manifestaciones cutáneas de la EICH aguda .....               | 69 |
| 1.2.5.1.   | Lesiones cutáneas .....                                       | 69 |
| 1.2.5.2.   | Lesiones orales .....                                         | 70 |
| 1.2.5.3.   | Gradación.....                                                | 71 |
| 1.2.5.4.   | Diagnóstico.....                                              | 72 |
| 1.2.5.5.   | Estudio histológico .....                                     | 73 |
| 1.2.5.6.   | Diagnóstico diferencial .....                                 | 75 |
| 1.2.6.     | Manifestaciones mucocutáneas de la EICH crónica .....         | 78 |
| 1.2.6.1.   | Piel .....                                                    | 78 |
| 1.2.6.2.   | Boca .....                                                    | 81 |
| 1.2.6.3.   | Pelo y uñas.....                                              | 82 |
| 1.2.6.4.   | Ojos .....                                                    | 83 |
| 1.2.6.5.   | Tracto genital.....                                           | 84 |
| 1.2.6.6.   | Diagnóstico.....                                              | 84 |
| 1.2.6.7.   | Gradación.....                                                | 84 |
| 1.2.6.8.   | Estudio histológico .....                                     | 85 |
| 1.2.6.9.   | Diagnostico diferencial .....                                 | 86 |
| 1.2.7.     | Biomarcadores en el diagnóstico y pronóstico de la EICH ..... | 87 |
| 2.         | HIPÓTESIS .....                                               | 89 |
| 3.         | OBJETIVOS .....                                               | 93 |

|                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4. MATERIAL Y MÉTODOS.....                                             | 97  |
| 4.1. PACIENTES Y CONTROLES.....                                        | 99  |
| 4.2. SEGUIMIENTO CLÍNICO .....                                         | 100 |
| 4.3. RECOGIDA DE MUESTRAS.....                                         | 101 |
| 4.3.1. Obtención y preservación de muestras sanguíneas .....           | 101 |
| 4.3.2. Obtención y preservación de muestras cutáneas .....             | 101 |
| 4.4. ESTUDIOS ESPECÍFICOS.....                                         | 102 |
| 4.4.1. Estudio de poblaciones linfocitarias en sangre periférica ..... | 102 |
| 4.4.1.1. Estudio automatizado de poblaciones linfocitarias.....        | 102 |
| 4.4.1.2. Estudio de las subpoblaciones de linfocitos T, B y NK .....   | 104 |
| 4.4.1.3. Estudio de células T reguladoras .....                        | 105 |
| 4.4.2. Determinación de elafina plasmática .....                       | 108 |
| 4.4.3. Estudio histológico de las biopsias cutáneas .....              | 110 |
| 4.4.3.1. Hematoxilina-Eosina .....                                     | 110 |
| 4.4.3.2. Inmunohistoquímica .....                                      | 114 |
| 4.4.3.3. Expresión de elafina.....                                     | 115 |
| 4.5. PROCEDIMIENTOS DEL TPH .....                                      | 118 |
| 4.5.1. Tipo de trasplante y esquemas de acondicionamiento .....        | 118 |
| 4.6. ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED .....                        | 120 |
| 4.6.1. Diagnóstico y clasificación .....                               | 120 |
| 4.6.2. Profilaxis de la EICH .....                                     | 123 |
| 4.6.3. Tratamiento de la EICH.....                                     | 123 |
| 4.6.4. Cuidados de soporte .....                                       | 125 |
| 4.7. OTRAS DEFINICIONES .....                                          | 130 |
| 4.7.1. Clasificación del estado de la enfermedad al trasplante .....   | 130 |
| 4.7.2. Injerto mieloide .....                                          | 130 |
| 4.7.3. Injerto plaquetar .....                                         | 130 |
| 4.7.4. Fallo de injerto.....                                           | 131 |
| 4.7.5. Respuesta al tratamiento de la EICH aguda .....                 | 131 |
| 4.7.6. Respuesta al tratamiento de la EICH crónica .....               | 131 |
| 4.8. RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y GESTIÓN DE LOS DATOS .....          | 132 |
| 4.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....                                         | 133 |
| 5. RESULTADOS.....                                                     | 135 |
| 5.1. DESCRIPCIÓN DE LA SERIE GLOBAL Y RESULTADOS DEL TRASPLANTE .....  | 137 |
| 5.1.1. Características de los pacientes .....                          | 137 |
| 5.1.2. Características del trasplante.....                             | 138 |

|         |                                                                                                            |     |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.1.3.  | Injerto mieloide y plaquetar .....                                                                         | 140 |
| 5.1.4.  | Recaída .....                                                                                              | 143 |
| 5.1.5.  | Mortalidad sin recaída y causas de muerte .....                                                            | 144 |
| 5.1.6.  | Supervivencia libre de enfermedad .....                                                                    | 146 |
| 5.1.7.  | Supervivencia global .....                                                                                 | 147 |
| 5.1.8.  | Supervivencia libre de EICH y recaída .....                                                                | 148 |
| 5.2.    | ANÁLISIS DE LA EICH AGUDA .....                                                                            | 149 |
| 5.2.1.  | Características de los pacientes .....                                                                     | 149 |
| 5.2.2.  | Características de los trasplantes .....                                                                   | 150 |
| 5.2.3.  | Grado global y por órganos .....                                                                           | 151 |
| 5.2.4.  | Incidencia acumulada de EICH aguda .....                                                                   | 154 |
| 5.2.5.  | Factores de riesgo .....                                                                                   | 155 |
| 5.2.6.  | Formas clínicas .....                                                                                      | 157 |
| 5.2.7.  | Tipo de lesiones cutáneas .....                                                                            | 157 |
| 5.3.    | ANÁLISIS DE LA EICH CRÓNICA .....                                                                          | 158 |
| 5.3.1.  | Características de los pacientes .....                                                                     | 158 |
| 5.3.2.  | Características de los trasplantes .....                                                                   | 159 |
| 5.3.3.  | Grado global y por órganos .....                                                                           | 160 |
| 5.3.4.  | Incidencia acumulada de EICH crónica .....                                                                 | 164 |
| 5.3.5.  | Factores de riesgo .....                                                                                   | 165 |
| 5.3.6.  | Formas clínicas de inicio de la EICH crónica .....                                                         | 168 |
| 5.3.7.  | Tipo de lesiones cutáneas y orales .....                                                                   | 169 |
| 5.4.    | IMPACTO DE LA EICH AGUDA Y CRÓNICA EN LOS RESULTADOS DEL TPH .....                                         | 171 |
| 5.5.    | CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE LAS BIOPSIAS DE PIEL EN LA EICH AGUDA, CRÓNICA Y TOXICODERMIAS .....   | 175 |
| 5.5.1.  | En la epidermis .....                                                                                      | 175 |
| 5.5.2.  | En la dermis papilar .....                                                                                 | 177 |
| 5.5.3.  | En la dermis reticular .....                                                                               | 179 |
| 5.5.4.  | En el tejido celular subcutáneo .....                                                                      | 181 |
| 5.5.5.  | En el epitelio folicular .....                                                                             | 182 |
| 5.5.6.  | En el epitelio ecrino .....                                                                                | 183 |
| 5.5.7.  | Infiltrado inflamatorio .....                                                                              | 185 |
| 5.5.8.  | Grado histológico en la EICH cutánea aguda y crónica según su gravedad .....                               | 186 |
| 5.5.9.  | Patrón histológico en la EICH aguda y crónica .....                                                        | 188 |
| 5.5.10. | Patrón de expresión de la elafina cutánea en la EICH aguda y crónica comparado con las toxicodermias ..... | 189 |

|                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.5.11. Asociación de la intensidad de la expresión de la elafina con el resto de variables histológicas. ....    | 191 |
| 5.5.12. Relación de la expresión de elafina con la intensidad y características del infiltrado inflamatorio. .... | 196 |
| 5.5.13. Relación de la expresión de elafina con la gravedad y pronóstico de la EICH aguda y crónica. ....         | 198 |
| 5.6. ELAFINA PLASMÁTICA.....                                                                                      | 200 |
| 5.6.1. Elafina plasmática pre- y pos-TPH en la serie global y según el tipo de TPH .....                          | 200 |
| 5.6.2. Elafina plasmática según el desarrollo de EICH aguda y grado de severidad.....                             | 201 |
| 5.6.3. Elafina plasmática en la EICH aguda y en las toxicodermias .....                                           | 205 |
| 5.6.4. Impacto de la elafina plasmática en los resultados del trasplante ....                                     | 206 |
| 5.7. ESTUDIO DE LAS POBLACIONES LINFOCITARIAS POS-TPH.....                                                        | 210 |
| 5.7.1. Poblaciones linfocitarias pos-TPH según el tipo de donante .....                                           | 213 |
| 5.7.2. Impacto de la EICH aguda en las poblaciones linfocitarias .....                                            | 217 |
| 5.7.3. Impacto de la EICH crónica en las poblaciones linfocitarias.....                                           | 218 |
| 6. DISCUSIÓN .....                                                                                                | 221 |
| 6.1. A PROPÓSITO DEL DISEÑO, OBJETIVOS Y OTROS ASPECTOS METODOLÓGICOS DEL ESTUDIO.....                            | 223 |
| 6.2. A PROPÓSITO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA SERIE Y LOS RESULTADOS DEL TRASPLANTE.....                          | 224 |
| 6.3. A PROPÓSITO DE LA EICH AGUDA .....                                                                           | 225 |
| 6.4. A PROPÓSITO DE LA EICH CRÓNICA .....                                                                         | 226 |
| 6.5. A PROPÓSITO DE LOS ESTUDIOS HISTOLÓGICOS EN LA EICH, AGUDA Y CRÓNICA, Y EN LAS TOXICODERMIAS .....           | 228 |
| 6.5.1. Contribución al diagnóstico diferencial entre EICH aguda y toxicodermias .....                             | 228 |
| 6.5.2. En relación a las características de la EICH aguda y la EICH crónica .....                                 | 230 |
| 6.5.3. En relación al infiltrado inflamatorio en la EICH aguda, EICH crónica y toxicodermias .....                | 231 |
| 6.5.4. Grado histológico de la EICH según la gravedad clínica .....                                               | 232 |
| 6.5.5. Patrón de expresión de elafina en biopsias de EICH aguda, EICH crónica y toxicodermias.....                | 233 |

|                                                                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.5.6. Asociación de la intensidad de expresión de elafina con variables histológicas, el infiltrado inflamatorio y el pronóstico ..... | 235 |
| 6.6. A PROPÓSITO DEL VALOR DE LA ELAFINA PLASMÁTICA COMO BIOMARCADOR DE EICH CUTÁNEA .....                                              | 236 |
| 6.7. A PROPÓSITO DE LA RECUPERACIÓN CELULAR INMUNE POSTRASPLANTE Y SU RELACIÓN CON LA EICH.....                                         | 240 |
| 7. CONCLUSIONES .....                                                                                                                   | 243 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA .....                                                                                                                   | 247 |
| 9. DOCUMENTOS ANEXOS .....                                                                                                              | 281 |
| ANEXO 1. INFORME DEL CEIB DEL HUIP LA FE.....                                                                                           | 283 |
| ANEXO 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES. ....                                                                                  | 285 |
| ANEXO 3. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES DEL GRUPO CONTROL. ....                                                                | 289 |
| ANEXO 4. PROTOCOLO DEL INMUNOENSAYO ELISA PARA DETECCIÓN DE ELAFINA PLASMÁTICA. ....                                                    | 293 |
| ANEXO 5. PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTE PROYECTO.....                                                                                  | 295 |
| ANEXO 6. COMUNICACIONES DERIVADAS DE ESTE PROYECTO. ....                                                                                | 297 |



## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1.1. Recomendaciones del EBMT 2015 para alo-TPH en adultos. ....                                                  | 6  |
| Tabla 1.2. Tipos de reacciones cutáneas graves por fármacos .....                                                       | 12 |
| Tabla 1.3. Clasificación y subtipos de EICH aguda y crónica. ....                                                       | 18 |
| Tabla 1.4. Factores de riesgo de EICH aguda. ....                                                                       | 22 |
| Tabla 1.5. Resumen de la gravedad de la EICH aguda por órgano.....                                                      | 25 |
| Tabla 1.6. Gravedad por órganos según el índice de Glucksberg clásico. ....                                             | 26 |
| Tabla 1.7. Gradación global según el índice de Glucksberg clásico. ....                                                 | 27 |
| Tabla 1.8. Gravedad por órganos según el índice de Glucksberg modificado por Thomas (1975). ....                        | 27 |
| Tabla 1.9. Gradación global según el índice de Glucksberg modificado por Thomas (1975). ....                            | 27 |
| Tabla 1.10. Gravedad por órganos según el índice de Glucksberg modificado por la conferencia de consenso de 1994.....   | 28 |
| Tabla 1.11. Gradación global según el índice de Glucksberg modificado por la conferencia de consenso de 1994.....       | 28 |
| Tabla 1.12. Sistema de clasificación de EICH aguda del IBMTR.....                                                       | 29 |
| Tabla 1.13. Comparación de los sistemas de clasificación de Glucksberg y del IBMTR. ....                                | 30 |
| Tabla 1.14. Índice de gravedad de Minnesota (MacMillan). ....                                                           | 31 |
| Tabla 1.15. Biomarcadores plasmáticos y celulares de EICH aguda.....                                                    | 38 |
| Tabla 1.16. Fármacos utilizados en los regímenes de profilaxis de EICH, mecanismos de acción y efectos secundarios..... | 40 |
| Tabla 1.17. Tratamiento de la EICH aguda refractaria a corticoides según órganos afectados. ....                        | 43 |
| Tabla 1.18. Características diagnósticas, distintivas y otras manifestaciones de la EICH crónica. ....                  | 55 |
| Tabla 1.19. Gradación de la EICH crónica por órganos. ....                                                              | 59 |

|                                                                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla 1.20. Biomarcadores plasmáticos y celulares de EICH crónica. ....                                                                        | 63  |
| Tabla 4.1. Estudio de poblaciones linfocitarias con el reactivo BD Multitest 6-color TBNK. ....                                                | 103 |
| Tabla 4.2. Panel de anticuerpos monoclonales y fluorocromos empleados para la identificación de las diferentes poblaciones de linfocitos. .... | 107 |
| Tabla 4.3. Variables evaluadas en la epidermis. ....                                                                                           | 111 |
| Tabla 4.4. Variables evaluadas en la dermis papilar. ....                                                                                      | 111 |
| Tabla 4.5. Variables evaluadas en la dermis reticular. ....                                                                                    | 112 |
| Tabla 4.6. Variables evaluadas en el tejido celular subcutáneo. ....                                                                           | 112 |
| Tabla 4.7. Variables evaluadas en el epitelio folicular. ....                                                                                  | 113 |
| Tabla 4.8. Variables evaluadas en el epitelio de las glándulas ecrinas. ....                                                                   | 113 |
| Tabla 4.9. Patrón histológico predominante. ....                                                                                               | 113 |
| Tabla 4.10. Definición de los grados histológicos. ....                                                                                        | 114 |
| Tabla 4.11. Caracterización del infiltrado inflamatorio mediante inmunohistoquímica. ....                                                      | 115 |
| Tabla 4.12. Parámetros valorados en la expresión de elafina en las biopsias cutáneas. ....                                                     | 115 |
| Tabla 4.13. Caracterización de la expresión de elafina en la epidermis. ....                                                                   | 116 |
| Tabla 4.14. Caracterización de la expresión de elafina en la capa granulosa. ....                                                              | 117 |
| Tabla 4.15. Protocolos de régimen de acondicionamiento. ....                                                                                   | 119 |
| Tabla 4.16. Estadio clínico de la EICH aguda. ....                                                                                             | 120 |
| Tabla 4.17. Grado de la EICH aguda según el índice de Glucksberg modificado. ....                                                              | 121 |
| Tabla 4.18. Grado de la EICH aguda según el índice del IBMTR. ....                                                                             | 121 |
| Tabla 4.19. Gradación clásica de la EICH crónica. ....                                                                                         | 122 |
| Tabla 4.20. Gradación del NIH de la EICH crónica. ....                                                                                         | 122 |
| Tabla 4.21. Profilaxis de la EICH. ....                                                                                                        | 123 |
| Tabla 4.22. Tratamiento de la EICH aguda. ....                                                                                                 | 124 |
| Tabla 4.23. Medidas de profilaxis de las infecciones. ....                                                                                     | 126 |
| Tabla 4.24. Monitorización de las infecciones. ....                                                                                            | 127 |

|                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla 4.25. Medidas de tratamiento de las infecciones.....                                                        | 128 |
| Tabla 4.26. Medidas de soporte de la EICH.....                                                                    | 129 |
| Tabla 4.27. Otras medidas de soporte. ....                                                                        | 129 |
| Tabla 5.1. Características basales de los pacientes en la serie global y según el tipo de TPH.....                | 137 |
| Tabla 5.2. Características de los trasplantes en la serie global y según el tipo de TPH.....                      | 139 |
| Tabla 5.3. Resultados globales y según el tipo de trasplante del injerto mieloide y plaquetar.....                | 141 |
| Tabla 5.4. Características de los pacientes según el desarrollo de EICH aguda.....                                | 149 |
| Tabla 5.5. Características de los trasplantes según el desarrollo de EICH aguda.....                              | 150 |
| Tabla 5.6. Grado de la EICH aguda global y por órganos.....                                                       | 152 |
| Tabla 5.7. Características de los pacientes según el desarrollo de EICH crónica. ....                             | 158 |
| Tabla 5.8. Características de los trasplantes según el desarrollo de EICH crónica. ..                             | 159 |
| Tabla 5.9. Grado de EICH crónica global y por órganos.....                                                        | 161 |
| Tabla 5.10. Relación entre EICH aguda y crónica según sus grados y formas de presentación. ....                   | 169 |
| Tabla 5.11. Tipo de lesiones cutáneas y en mucosa oral.....                                                       | 169 |
| Tabla 5.12. Impacto de la EICH aguda en la EICH crónica.....                                                      | 171 |
| Tabla 5.13. Rasgos histológicos en la epidermis de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias.....         | 175 |
| Tabla 5.14. Rasgos histológicos en la dermis papilar de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias. ....   | 177 |
| Tabla 5.15. Rasgos histológicos en la dermis reticular de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias. .... | 179 |
| Tabla 5.16. Rasgos histológicos en tejido subcutáneo de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias. ....   | 181 |
| Tabla 5.17. Rasgos histológicos en epitelio folicular de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias. ....  | 182 |

|                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla 5.18. Rasgos histológicos en epitelio ecrino de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias. ....                                | 184 |
| Tabla 5.19. Características del infiltrado inflamatorio en la piel de EICH aguda, crónica y toxicodermias. ....                              | 185 |
| Tabla 5.20. Grados histológicos en la EICH cutánea aguda y crónica. ....                                                                     | 186 |
| Tabla 5.21. Grados histológicos según la gravedad de la EICH aguda (Glucksberg). ....                                                        | 187 |
| Tabla 5.22. Grados histológicos según la gravedad cutánea máxima de la EICH cutánea aguda. ....                                              | 187 |
| Tabla 5.23. Grados histológicos según la gravedad de la EICH crónica. ....                                                                   | 188 |
| Tabla 5.24. Grados histológicos según la gravedad cutánea máxima de la EICH crónica. ....                                                    | 188 |
| Tabla 5.25. Patrones de expresión de la elafina en las biopsias. ....                                                                        | 190 |
| Tabla 5.26. Patrones de expresión de la elafina en las biopsias agrupados según su intensidad. ....                                          | 191 |
| Tabla 5.27. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con rasgos histológicos de la EICH en su conjunto (aguda y crónica). .... | 191 |
| Tabla 5.28. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con rasgos histológicos de la EICH aguda. ....                            | 193 |
| Tabla 5.29. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con rasgos histológicos de la EICH crónica. ....                          | 194 |
| Tabla 5.30. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con rasgos histológicos de las toxicodermias. ....                        | 195 |
| Tabla 5.31. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con el infiltrado inflamatorio en la EICH aguda cutánea. ....             | 197 |
| Tabla 5.32. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con el infiltrado inflamatorio en la EICH crónica cutánea. ....           | 197 |
| Tabla 5.33. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con el infiltrado inflamatorio en las toxicodermias. ....                 | 197 |
| Tabla 5.34. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina y grado de EICH aguda. ....                                               | 198 |

|                                                                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla 5.35. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina y grado de EICH crónica. ....                                                             | 198 |
| Tabla 5.36. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con la MSR y SG.....                                                                      | 199 |
| Tabla 5.37. Niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH en la serie global y según tipos de TPH.....                                                        | 200 |
| Tabla 5.38. Niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH según desarrollo de EICH aguda.....                                                                 | 202 |
| Tabla 5.39. Niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH según gravedad cutánea en la EICH aguda. ....                                                       | 205 |
| Tabla 5.40. Niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH según desarrollo de EICH aguda.....                                                                 | 205 |
| Tabla 5.41. Incidencia acumulada de recaída (95% IC) según los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes con EICH aguda..... | 207 |
| Tabla 5.42. Incidencia acumulada de MSR (95% IC) según los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes con EICH aguda.....     | 208 |
| Tabla 5.43. Supervivencia global (95% IC) según los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes con EICH aguda. ....           | 209 |
| Tabla 5.44. Recuentos de poblaciones de linfocitos en los días 100, 180 y 365 postrasplante. ....                                                            | 210 |
| Tabla 5.45. Recuentos de poblaciones de linfocitos pos-TPH según el tipo de donante.....                                                                     | 215 |
| Tabla 5.46. Recuentos de poblaciones de linfocitos pos-TPH según la EICH aguda.                                                                              | 215 |
| Tabla 5.47. Recuentos de poblaciones de linfocitos pos-TPH según la EICH crónica.....                                                                        | 219 |
| Tabla 6.1 Estudios que han evaluado la expresión de elafina tisular en la EICH y otras causas de exantema.....                                               | 234 |
| Tabla 6.2. Estudios que han evaluado la elafina plasmática como biomarcador de EICH y otros eventos del alo-TPH.....                                         | 238 |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 1.1. Modalidades de TPH alogénico según la compatibilidad HLA, tipo de donante, fuente de progenitores y tipo de acondicionamiento. .... | 4   |
| Figura 1.2. Esquema del procedimiento del alo-TPH. ....                                                                                         | 8   |
| Figura 1.3. Esquema cronológico de las variantes de EICH. ....                                                                                  | 18  |
| Figura 1.4. Fisiopatología de la enfermedad de injerto contra huésped. ....                                                                     | 21  |
| Figura 1.5: Vías de actuación de los principales inmunosupresores. ....                                                                         | 44  |
| Figura 1.6. Áreas de afectación inicial del exantema en la EICH cutánea aguda. ....                                                             | 69  |
| Figura 1.7. Paciente con EICH cutánea aguda grave. ....                                                                                         | 70  |
| Figura 1.8. Imágenes de pacientes con EICH cutánea aguda. ....                                                                                  | 72  |
| Figura 1.9. Grados histológicos de la EICH aguda cutánea. ....                                                                                  | 74  |
| Figura 1.10. Manifestaciones cutáneas diagnósticas de EICH crónica. ....                                                                        | 80  |
| Figura 1.11. Otras manifestaciones de EICH cutánea crónica. ....                                                                                | 81  |
| Figura 1.12. Lesiones de EICH crónica oral. ....                                                                                                | 82  |
| Figura 1.13. Manifestaciones ungueales de EICH crónica. ....                                                                                    | 83  |
| Figura 1.14. Esquema de las manifestaciones cutáneas e histológicas de la EICH crónica. Adaptado de Peña (Penas & Zaman, 2010). ....            | 86  |
| Figura 4.1. Pacientes sometidos a alo-TPH incluidos en el estudio. ....                                                                         | 99  |
| Figura 4.2. Esquema del inmunoensayo ELISA tipo sándwich para la detección de elafina plasmática. ....                                          | 108 |
| Figura 4.3. Inmunoensayo ELISA para detección de elafina plasmática. ....                                                                       | 109 |
| Figura 4.4. Proceso para la realización de un TPH. ....                                                                                         | 118 |
| Figura 4.5. Algoritmo terapéutico de la EICH y las diferentes líneas de tratamiento. ....                                                       | 124 |
| Figura 5.1. Incidencia acumulada de injerto mieloide. ....                                                                                      | 141 |
| Figura 5.2. Incidencia acumulada de injerto mieloide según el tipo de trasplante. ....                                                          | 141 |
| Figura 5.3. Incidencia acumulada de injerto plaquetar. ....                                                                                     | 142 |

|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 5.4. Incidencia acumulada de injerto plaquetar según el tipo de trasplante.... | 142 |
| Figura 5.5. Incidencia acumulada de recaída en la serie global.....                   | 143 |
| Figura 5.6. Incidencia acumulada de recaída según el tipo de trasplante.....          | 143 |
| Figura 5.7. Incidencia acumulada de MSR.....                                          | 144 |
| Figura 5.8. Incidencia acumulada de MSR según el tipo de trasplante.....              | 144 |
| Figura 5.9. Causas de muerte en la serie global. ....                                 | 145 |
| Figura 5.10. Causas de muerte sin recaída en la serie global. ....                    | 145 |
| Figura 5.11. Supervivencia libre de enfermedad en la serie global. ....               | 146 |
| Figura 5.12. Supervivencia libre de enfermedad según el tipo de trasplante. ....      | 146 |
| Figura 5.13. Supervivencia de la serie global. ....                                   | 147 |
| Figura 5.14. Supervivencia global según el tipo de trasplante. ....                   | 147 |
| Figura 5.15. Supervivencia libre de EICH y recaída en la serie global.....            | 148 |
| Figura 5.16. Supervivencia libre de EICH y recaída según el tipo de trasplante.....   | 148 |
| Figura 5.17. Distribución y grado de afectación de órganos en la EICH aguda. ....     | 152 |
| Figura 5.18. Órganos involucrados en la EICH aguda. ....                              | 153 |
| Figura 5.19. Incidencia acumulada de EICH aguda grado I-IV. ....                      | 154 |
| Figura 5.20. Incidencia acumulada de EICH aguda grado II-IV. ....                     | 154 |
| Figura 5.21. Incidencia acumulada de EICH aguda grado III-IV. ....                    | 155 |
| Figura 5.22. Incidencia acumulada de EICH aguda grado I-IV según tipo de TPH....      | 155 |
| Figura 5.23. Incidencia acumulada de EICH aguda grado II-IV según tipo de TPH...      | 156 |
| Figura 5.24. Incidencia acumulada de EICH aguda grado III-IV según tipo de TPH..      | 156 |
| Figura 5.25. Distribución y grado de afectación de órganos en la EICH crónica. ....   | 162 |
| Figura 5.26. Órganos involucrados en la EICH crónica.....                             | 163 |
| Figura 5.27. Incidencia acumulada de EICH crónica de cualquier grado.....             | 164 |
| Figura 5.28. Incidencia acumulada de EICH crónica moderada-grave. ....                | 164 |
| Figura 5.29. Incidencia acumulada de EICH crónica grave.....                          | 165 |



|                                                                                                                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 5.30. Incidencia acumulada de EICH crónica de cualquier grado según tipo de TPH previo.....                                                                                                 | 165 |
| Figura 5.31. Incidencia acumulada de EICH crónica de cualquier grado según tipo de TPH.....                                                                                                        | 166 |
| Figura 5.32. Incidencia acumulada de EICH crónica moderada-grave según tipo de TPH previo.....                                                                                                     | 167 |
| Figura 5.33. Incidencia acumulada de EICH crónica moderada-grave según tipo de TPH.....                                                                                                            | 167 |
| Figura 5.34. Incidencia acumulada de EICH crónica grave según tipo de TPH.....                                                                                                                     | 168 |
| Figura 5.35. Incidencia acumulada de MSR según el grado de EICH aguda. ....                                                                                                                        | 171 |
| Figura 5.36. Incidencia acumulada de MSR según el grado de EICH crónica.....                                                                                                                       | 172 |
| Figura 5.37. Incidencia acumulada de recaída según el grado de EICH aguda. ....                                                                                                                    | 173 |
| Figura 5.38. Incidencia acumulada de recaída según el grado de EICH crónica.....                                                                                                                   | 173 |
| Figura 5.39. SG según el grado de EICH aguda. ....                                                                                                                                                 | 174 |
| Figura 5.40. SG según el grado de EICH crónica. ....                                                                                                                                               | 174 |
| Figura 5.41. Cambios en los niveles de elafina durante el primer año después del TPH.....                                                                                                          | 201 |
| Figura 5.42. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día +7.....                                                                                                                    | 203 |
| Figura 5.43. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día +14.....                                                                                                                   | 203 |
| Figura 5.44. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día +21.....                                                                                                                   | 203 |
| Figura 5.45. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día +28.....                                                                                                                   | 204 |
| Figura 5.46. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día del exantema.....                                                                                                          | 204 |
| Figura 5.47. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes que desarrollaron EICH aguda y en una serie control de pacientes con toxicodermias. .... | 206 |
| Figura 5.48. Cambios en las principales poblaciones linfocitarias durante el primer año después del TPH. ....                                                                                      | 212 |



## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

**AAT** = alfa-1 antitripsina

**AcMo** = anticuerpo monoclonal

**AcMos** = anticuerpos monoclonales

**Ag GM** = antígeno galactomanano

**AHAI** = anemia hemolítica autoinmune

**AIR** = acondicionamiento de intensidad reducida

**Alo-TPH** = trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

**ALT** = alanina aminotransferasa

**AST** = aspartato aminotransferasa

**AMA** = acondicionamiento mieloablatoivo

**APC** = alofococianina

**APCH7** = alofococianina con cianina 7

**AREB** = anemia refractaria con exceso de blastos

**ATG** = globulina antitimocítica (anti-timoglobulina)

**AVD** = actividades de la vida diaria

**BAL** = lavado bronquioalveolar

**BO** = bronquiolitis obliterante

**BOOP** = neumonía organizada con bronquiolitis

**BT** = bilirrubina total

**BV421** = violeta brillante 421

**CaM** = calcium-modulated protein

**CCR5** = receptor de quimioquinas tipo 5

**CIBMTR** = Center for International Blood and Marrow Transplant Research

**CMV** = citomegalovirus

**CPA** = célula presentadora de antígeno

**CPH** = células progenitoras hematopoyéticas

**CSA** = ciclosporina A

**CT** = celularidad total

**CTLA-4** = cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4

**CXCL9** = C-X-C Motif Chemokine Ligand 9

**CY-PT** = ciclofosfamida pos-trasplante

**DAG** = diacilglicerol

**DNE** = donante no emparentado

**EBMT** = European Group for Blood and Marrow Transplantation

**ECP** = fotoféresis extracorpórea

**EDTA** = ácido etilenodiaminotetraacético

**EICH** = enfermedad injerto contra huésped

**EICHa** = enfermedad injerto contra huésped aguda

**EICHc** = enfermedad injerto contra huésped crónica

**ELISA** = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

**EM** = eritema multiforme

**ERK** = extracellular signal-regulated kinases

**FA** = fosfatasa alcalina

**FEV1** = volumen espiratorio forzado en el primer segundo

**FITC** = isotiocianato de fluoresceína

**FKBP12** = FK-binding protein 12

**FLC** = fluorocromo

**FSC** = forward scatter component

**FSC-A** = forward scatter component-area

**FSC-H** = forward scatter component-height

**FVC** = capacidad vital forzada

**G-CSF** = factor estimulante de colonias de granulocitos

**GM-CSF** = factor de estimulación de colonias de granulocitos y macrófagos

**HCT-CI** = hematopoietic cell transplant comorbidity index

**HEPA** = high-efficiency particulate air

**HGF** = hepatocyte growth factor

**HHV-6** = human herpes virus 6

**HHV-7** = human herpes virus 7

**HLA** = human leukocyte antigen

**HRP** = peroxidasa

**HUip La Fe** = Hospital Universitari i Politècnic La Fe

**HV500** = horizon violeta 500

**IBMTR** = International Bone Marrow Transplant Registry

**ICAM-1** = Intercellular adhesion molecule 1

**ICN**= inhibidores de la calcineurina

**ICT** = Injerto contra tumor

**IFI** = infección fúngica invasiva

**IFN** = interferón

**IIS la Fe** = Instituto de Investigación Sanitaria la Fe

**IL-2R $\alpha$**  = IL-2-receptor-  $\alpha$

**iNKT** = Invariant natural killer T cells

**IP3** = trifosfoinositol

**IV** = intravenoso

**JAK** = janus kinasa

**JNK** = c-Jun N-terminal kinase

**LLA** = leucemia linfática aguda

**LMA** = leucemia mieloide aguda

**LMC** = leucemia mieloide crónica

**MAPK** = mitogen-activated protein kinases

**MFM** = micofenolato mofetilo

**MG** = mortalidad global

**MHC** = complejo mayor de histocompatibilidad

**MMP3** = matrix metalloproteinase 3

**MRT** = mortalidad relacionada con el trasplante

**MSR** = mortalidad sin recaída

**mTOR** = mammalian Target of Rapamycin

**NET** = necrosis epidérmica tóxica

**NFAT** = nuclear factor of activated T-cells

**NFkB** = nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

**NIH** = National Institutes of Health

**NK** = células natural killer

**PBS** = solución salina tampón fosfato

**PCR** = proteína C reactiva

**PD-L1** = programmed death-ligand 1

**PD1** = programmed cell death protein 1

**PE** = ficoeritrina

**PECy7** = ficoeritrina con cianina 7 en tándem

**PerCPCy5.5** = proteína peridín clorofila con cianina 5.5 en tándem

**PFH** = pruebas de función hepática

**PI3** = fosfoinositol 3

**PI(4,5)P2** = fosfatidilinositol 4,5-bifosfato

**PL** = población linfóide

**PLB** = población linfóide B

**PLT** = población linfóide T

**P-ROM** = escala de rango de movimiento fotográfico

**PTI** = púrpura trombocitopénica idiopática

**PUVA** = psoralenos más ultravioleta A

**QCS** = queratoconjuntivitis sicca

**Q1** = primer cuartil

**Q3** = tercer cuartil

**RAN** = recuento absoluto de neutrófilos

**RC1** = primera remisión completa

**REG3 $\alpha$**  = regenerating islet-derived 3-alpha

**RG** = grupos de riesgo

**RHF** = reacción por hipersensibilidad a fármacos

**Rx** = radiografía simple

**sBAFF** = soluble B-cell activating factor

**SCT** = superficie corporal total

**SCU** = sangre de cordón umbilical

**SG** = supervivencia global

**SLE** = supervivencia libre de enfermedad

**SLER** = supervivencia libre de enfermedad y recaída

**SLPT-VEB** = síndrome linfoproliferativo pos-trasplante asociado a VEB

**SMD** = síndromes mielodisplásicos

**SNC** = sistema nervioso central

**SSC** = side scatter component

**SSJ** = síndrome de Stevens-Johnson

**STAT** = signal transducers and activators of transcription

**ST2** = suppression of tumorigenicity 2

**TA** = temperatura ambiente

**TBF** = tiotepa, busulfán, fludarabina

**TC** = tomografía computarizada

**TCM** = célula T de memoria central

**TCR** = receptor de célula T

**TD** = toxicodermias

**TEM** = célula efectora de memoria T

**TFH** = T follicular helper cells

**TIA-1** = T-cell intracellular antigen 1

**TIM3**: T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein

**TLR** = toll-like receptors

**TLR9** = toll-like receptor 9

**TMB** = tetrametilbencidina

**TNFR** = tumor necrosis factor receptor

**TNFR1** = tumor necrosis factor receptor-1

**TNF $\alpha$**  = factor de necrosis tumoral alfa

**TPH** = trasplante de progenitores hematopoyéticos

**TRAIL** = ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral

**Tregs** = células T reguladoras

**TSCU** = trasplante de sangre de cordón umbilical

**VEB** = virus de Epstein-Barr

**VLN** = valor límite de la normalidad

**+** = días tras el trasplante

**–** = días previo al trasplante



## 1. INTRODUCCIÓN



## 1.1. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

### 1.1.1. Concepto y definición

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) consiste en la sustitución del sistema hematopoyético de un paciente por células hematopoyéticas de un donante sano. En el TPH *autólogo*, el donante y receptor son el mismo individuo. En el TPH singénico, el donante y receptor son gemelos genéticamente idénticos. En cambio, en el TPH alogénico (alo-TPH), el donante y receptor son genéticamente diferentes.

### 1.1.2. Tipos de TPH alogénico

El alo-TPH puede clasificarse esquemáticamente de acuerdo principalmente a los siguientes criterios:

#### 1) Origen o fuente de los progenitores hematopoyéticos:

- a. Médula ósea
- b. Sangre periférica
- c. Cordón umbilical (SCU)

#### 2) Grado de identidad HLA entre donante y receptor:

- a. HLA idéntico
- b. HLA parcialmente idéntico
- c. Haploidéntico

#### 3) Parentesco entre donante y receptor:

- a. Emparentado / familiar (sólo el 30% de los pacientes disponen de un donante emparentado HLA idéntico)
- b. No emparentado (DNE) / no familiar

#### 4) Intensidad del acondicionamiento al trasplante:

- a. Mieloablatoivo (AMA)
- b. Intensidad reducida (AIR) o no mieloablatoivo

#### 5) Manipulación del injerto:

- a. No manipulado
- b. Depleción parcial de linfocitos T

En la Figura 1.1 se muestran esquemáticamente las posibles combinaciones de los primeros 4 criterios anteriores.

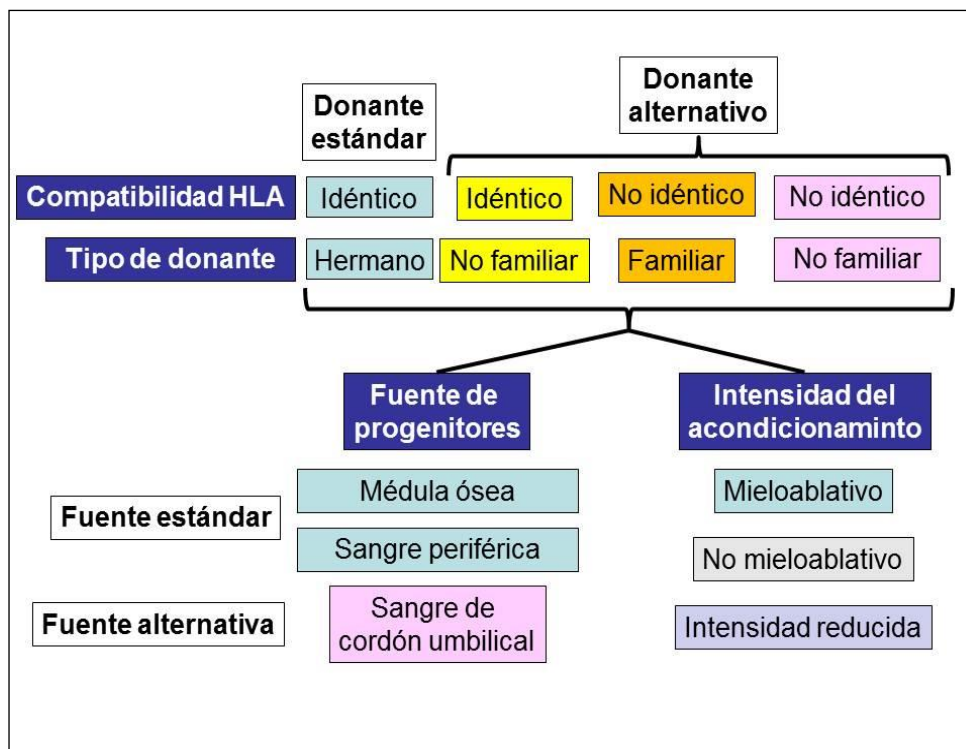


Figura 1.1. Modalidades de TPH alogénico según la compatibilidad HLA, tipo de donante, fuente de progenitores y tipo de acondicionamiento.

#### 1.1.3.Indicaciones de TPH alogénico

El alo-TPH es la mejor opción terapéutica para un número creciente de pacientes con enfermedades hematológicas sobre todo neoplásicas.

Así también, es el único tratamiento curativo de enfermedades genéticas del sistema inmune como las enfermedades autoinmunes o inmunodeficiencias. Además de que supone la curación de enfermedades malignas, ofrece una potente actividad antitumoral mantenida en el tiempo, la cual está mediada en gran medida por el efecto inmunológico que produce el injerto contra las células neoplásicas. Este fenómeno se conoce como efecto injerto contra tumor (ICT). Sin embargo, el beneficio clínico del alo-TPH queda limitado por una elevada morbilidad y mortalidad asociada al procedimiento y sus complicaciones.

La evidencia científica en la que se basan las indicaciones del alo-TPH en las diferentes enfermedades está en constante evolución y, en ocasiones, no es muy sólida, ya que en gran medida se basa en estudios retrospectivos y estudios de registro. En los últimos años, ha aumentado el número de estudios prospectivos aleatorizados.

Por las razones anteriores, las indicaciones del alo-TPH no están definitivamente establecidas y dependen de las características del paciente (edad, comorbilidades, expectativa de vida, etc.), de la enfermedad de base (agresividad, fase), así como de la disponibilidad y tipo de donante, experiencia del equipo médico y la preferencia del paciente. La decisión sobre la indicación y tipo de alo-TPH más adecuado debe realizarse de forma individualizada para cada paciente, en centros con amplia experiencia, y teniendo en cuenta los beneficios y riesgos a corto y largo plazo respecto a otras alternativas terapéuticas.

A modo orientativo, en la Tabla 1.1 se muestran las recomendaciones de alo-TPH del European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) para pacientes adultos con enfermedades hematológicas malignas, anemia aplásica y enfermedades no hematológicas (Sureda *et al*, 2015).

Tabla 1.1. Recomendaciones del EBMT 2015 para alo-TPH en adultos

| <i>Disease</i>               | <i>Disease status</i>                                         | <i>Sibling donor<br/>allo-HSCT</i> | <i>Well-matched URD<br/>allo-HSCT</i> | <i>Alternative donor<br/>allo-HSCT</i> | <i>ASCT</i> |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-------------|
| <i>Leukaemias</i>            |                                                               |                                    |                                       |                                        |             |
| AML                          | CR1 (low risk) <sup>a</sup>                                   | CO/II                              | D/II                                  | GNR/II                                 | CO/I        |
|                              | CR1 (intermediate) <sup>a</sup>                               | S/II                               | CO/II                                 | D/II                                   | S/I         |
|                              | CR1 (high risk) <sup>a</sup>                                  | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | CO/I        |
|                              | CR2                                                           | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | CO/II       |
|                              | CR3, incipient relapse                                        | S/III                              | CO/III                                | D/III                                  | GNR/III     |
|                              | M3 Molecular persistence                                      | S/II                               | CO/II                                 | GNR/III                                | GNR/III     |
|                              | M3 Molecular CR2                                              | S/II                               | CO/II                                 | GNR/III                                | S/II        |
|                              | Relapse or refractory                                         | CO/II                              | CO/II                                 | D/II                                   | GNR/III     |
|                              | Ph (–), CR1 (standard risk) <sup>a</sup>                      | D/II                               | GNR/II                                | GNR/III                                | CO/III      |
|                              | Ph (–), CR1 (high risk) <sup>a</sup>                          | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | GNR/III     |
|                              | Ph (+), CR1                                                   | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | CO/III      |
|                              | CR2, incipient relapse                                        | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | GNR/II      |
|                              | Relapse or refractory                                         | CO/II                              | D/II                                  | D/II                                   | GNR/III     |
| ALL                          | 1st CP, failing TKI                                           | S/II                               | S/II                                  | CO/III                                 | GNR/II      |
|                              | Accelerated phase or > 1st CP                                 | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | D/III       |
|                              | Blast crisis                                                  | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | GNR/III     |
| CML                          | Primary or secondary with an intermediate or high DIPSS score | S/II                               | S/II                                  | S/II                                   | GNR/III     |
| Myelofibrosis                | RA, RCMD, RAEB I and II                                       | S/II                               | S/II                                  | S/II                                   | GNR/III     |
|                              | sAML in CR1 or CR2                                            | S/II                               | S/II                                  | S/II                                   | CO/II       |
| MDS                          | More advanced stages                                          | S/II                               | S/II                                  | S/II                                   | GNR/III     |
|                              | Poor risk disease                                             | S/II                               | S/II                                  | D/III                                  | GNR/I       |
| <i>Lymphoid malignancies</i> |                                                               |                                    |                                       |                                        |             |
| DLBCL                        | CR1 (intermediate/high IPI at dx)                             | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | CO/I        |
|                              | Chemosensitive relapse, ≥CR2                                  | CO/II                              | CO/II                                 | D/III                                  | S/I         |
|                              | Chemosensitive relapse after auto-HSCT failure                | S/II                               | S/II                                  | CO/III                                 | GNR/III     |
| MCL                          | Refractory disease                                            | CO/II                              | CO/II                                 | D/III                                  | CO/II       |
|                              | CR1                                                           | D/III                              | D/III                                 | GNR/III                                | S/I         |
|                              | CR/PR > 1, prior auto-HSCT no                                 | CO/III                             | CO/III                                | D/III                                  | S/II        |
| FL                           | CR/PR > 1, prior auto-HSCT yes                                | S/II                               | S/II                                  | CO/III                                 | GNR/II      |
|                              | Refractory                                                    | CO/II                              | CO/II                                 | D/III                                  | GNR/II      |
|                              | CR1                                                           | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | D/II        |
| WM                           | Chemosensitive relapse, ≥CR2                                  | CO/III                             | CO/III                                | GNR/III                                | S/II        |
|                              | ≥CR2 after auto-HSCT failure                                  | S/II                               | S/II                                  | D/III                                  | GNR/III     |
|                              | Refractory                                                    | CO/II                              | CO/II                                 | CO/III                                 | GNR/III     |
| TCL                          | CR1                                                           | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | D/II        |
|                              | Chemosensitive relapse, ≥CR2                                  | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | CO/II       |
|                              | Poor risk disease                                             | CO/II                              | CO/II                                 | D/III                                  | GNR/III     |
| Primary CTCL                 | CR1                                                           | CO/II                              | CO/II                                 | GNR/III                                | CO/II       |
|                              | Refractory                                                    | CO/II                              | CO/II                                 | CO/III                                 | GNR/II      |
|                              | EORTC/ISCL Stages I–IIA (Early)                               | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | GNR/III     |
| HL                           | EORTC/ISCL Stages IIB–IV (Advanced)                           | CO/III                             | CO/III                                | D/III                                  | GNR/III     |
|                              | CR1                                                           | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | GNR/I       |
|                              | Chemosensitive relapse, no prior auto-HSCT                    | D/III                              | D/III                                 | GNR/III                                | S/I         |
| MM                           | Chemosensitive relapse, prior auto-HSCT                       | S/II                               | S/II                                  | CO/III                                 | CO/III      |
|                              | Refractory                                                    | D/II                               | D/II                                  | D/III                                  | CO/III      |
|                              | AL                                                            | CO/I                               | CO/II                                 | GNR/III                                | S/I         |
| AL                           |                                                               | CO/III                             | CO/III                                | GNR/III                                | CO/II       |
| <i>Other diseases</i>        |                                                               |                                    |                                       |                                        |             |
| Acquired SAA                 | Newly diagnosed                                               | S/II                               | S (children)/II;<br>CO (adults) /II   | GNR/III                                | NA          |
|                              | Relapse/Refractory                                            | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | NA          |
| Acquired AA/PNH              | Newly diagnosed                                               | S/II                               | CO/II                                 | GNR/III                                | NA          |
|                              | Relapse/Refractory                                            | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | NA          |
| Haemolytic PNH               |                                                               | GNR/II                             | GNR/II                                | GNR/II                                 | NA          |
|                              | Constitutional SAA                                            | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | NA          |
| Breast cancer                | Fanconi anaemia                                               | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | NA          |
|                              | Dyskeratosis congenital                                       | S/II                               | S/II                                  | CO/II                                  | NA          |
| Germ cell tumours            | Adjuvant high risk, HER2-negative                             | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | CO/II       |
|                              | Metastatic, chemosensitive                                    | D/II                               | D/II                                  | GNR/III                                | D/CO/II     |
|                              | Second line, high risk                                        | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | CO/II       |
|                              | Primary refractory, second & further relapse                  | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | S/II        |

| <i>Disease</i>                       | <i>Disease status</i>                          | <i>Sibling donor<br/>allo-HSCT</i> | <i>Well-matched URD<br/>allo-HSCT</i> | <i>Alternative donor<br/>allo-HSCT</i> | <i>ASCT</i> |
|--------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-------------|
| Ovarian cancer                       | High risk/recurrent                            | D/II                               | GNR/III                               | GNR/III                                | GNR/I-II    |
| Medulloblastoma                      | Post-surgery, high risk                        | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | D/CO/III    |
| Small cell lung cancer               | Limited                                        | GNR/III                            | GNR/III                               | GNR/III                                | D/I-II      |
| Soft tissue sarcoma                  | Metastatic                                     | D/III                              | GNR/III                               | GNR/III                                | GNR/II      |
| Ewing's sarcoma family of<br>tumours | Locally advanced/metastatic,<br>chemosensitive | D/III                              | GNR/III                               | GNR/III                                | CO/III      |
| Renal cell carcinoma                 | Metastatic, cytokine-refractory                | D/II                               | D/II                                  | GNR/III                                | GNR/III     |
| Pancreatic cancer                    | Advanced                                       | D/III                              | GNR/III                               | GNR/III                                | GNR/III     |
| Colorectal cancer                    | Metastatic                                     | D/III                              | GNR/III                               | GNR/III                                | GNR/III     |
| Multiple sclerosis                   |                                                | D/III                              | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| Systemic sclerosis                   |                                                | D/III                              | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| Systemic lupus erythematosus         |                                                | D/III                              | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| Crohn's disease                      |                                                | GNR/III                            | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| Rheumatoid arthritis                 |                                                | GNR/III                            | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| Vasculitis                           |                                                | GNR/III                            | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| Polymyositis-dermatomyositis         |                                                | GNR/III                            | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| CIPD                                 |                                                | GNR/III                            | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| NMO                                  |                                                | GNR/III                            | GNR/III                               |                                        | CO/I        |
| Cytopenias                           |                                                | CO/II                              | CO/II                                 |                                        | CO/I        |
| T1D                                  |                                                | GNR/III                            | GNR/III                               |                                        | D/III       |
| RCD type II                          |                                                | GNR/III                            | GNR/III                               |                                        | D/III       |

Abbreviations: AA = aplastic anaemia; AL = amyloidosis; CLL, chronic lymphocytic; CO = clinical option, can be carried after careful assessment of risks and benefits; CP = chronic phase; CR1, 2, 3 = first, second, third CR; CTCL = cutaneous T-cell lymphoma; D = developmental, further trials are needed; DIPSS = Dynamic international prognostic score system; DLBCL = diffuse large B cell lymphoma; FL = follicular lymphoma; GNR = generally not recommended; HL = Hodgkin lymphoma; IPI = International prognostic index; M3 = Promyelocytic leukaemia; MCL = mantle cell lymphoma; MM = multiple myeloma; PNH = paroxysmal nocturnal haemoglobinuria; PR, partial remission; RA = refractory anaemia; RAEB = refractory anaemia with excess blasts; RCMD = refractory cytopenia with multilineage dysplasia; S = standard of care generally indicated in suitable patients; SAA = severe aplastic anaemia; sAML = secondary AML; TCL = T-cell lymphoma; TKI = tyrosine kinase inhibitors; WM = Waldenstrom macroglobulinaemia. This classification does not cover patients for whom a syngeneic donor is available. Alternative donors denote MMUD, Cord Blood, Haploidentical Transplants. Well-matched unrelated donor = 10/10, 8/8, 9/10 (if mismatch in DQB1). \*Categories are based mainly on number of WBCs, cytogenetics at diagnosis and molecular markers, and time to achieve remission according to international trials.<sup>247</sup>

#### 1.1.4. Procedimiento del TPH alogénico

El procedimiento del alo-TPH, esquematizado en la Figura 1.2, consiste en la infusión de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) tras el tratamiento con quimioterapia/radioterapia de acondicionamiento. El objetivo del acondicionamiento es por un lado eliminar o restringir la hematopoyesis patológica del receptor, proporcionando espacio para el injerto de las células en la médula ósea. Por otro lado, suprimir el sistema inmunológico del receptor para prevenir el rechazo del injerto. Todo ello sin interferir en el prendimiento de las células en la médula ósea o condicionar el posterior efecto ICT y con una toxicidad aceptable (Welniak *et al*, 2007). Tras el acondicionamiento, las CPH infundidas se anidan en la médula ósea y producen la regeneración hematopoyética. Tras ello, es necesario mantener el estado de inmunosupresión del huésped para prevenir la actividad del sistema inmunológico del donante contra el huésped, lo que se conoce como enfermedad de injerto contra huésped (EICH). Los protocolos de acondicionamiento y profilaxis de la EICH varían dependiendo del estado de la enfermedad de base, el tipo de donante y fuente de progenitores hematopoyéticos y además pueden variar entre los diferentes centros de trasplante.

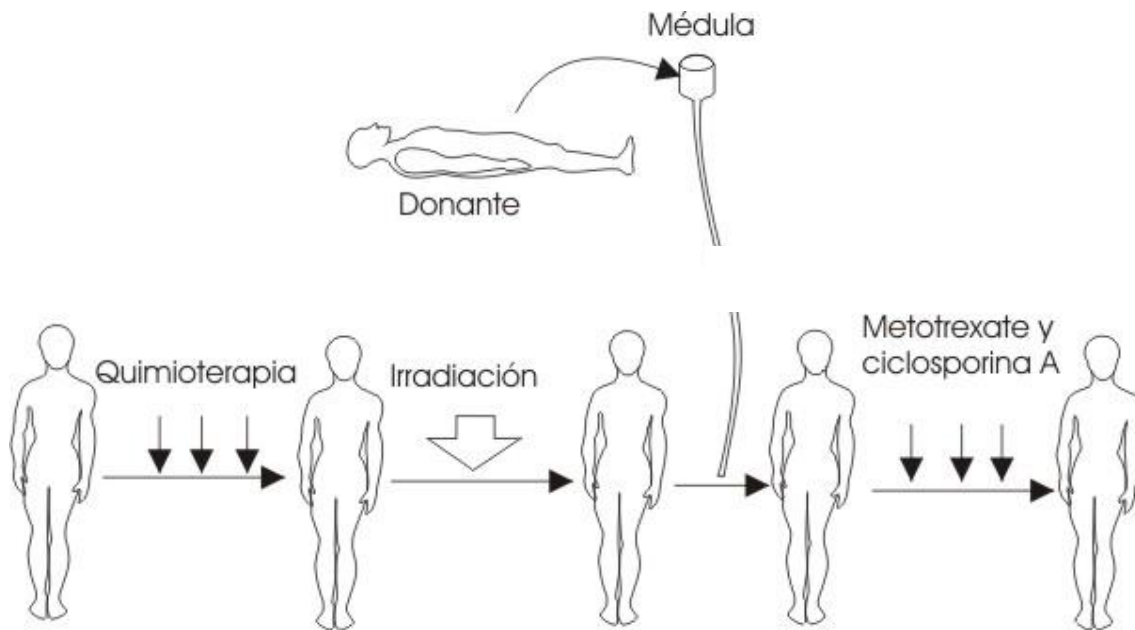


Figura 1.2. Esquema del procedimiento del alo-TPH.

(1) Régimen de acondicionamiento con quimio y/o radioterapia. (2) Infusión de las células progenitoras hematopoyéticas. (3) Mantenimiento de la inmunosupresión como profilaxis de la EICH. Adaptado de Rodríguez-Fernández.

### 1.1.5. Reconstitución inmune postrasplante

La reconstitución inmunológica es el proceso de recuperación progresiva del sistema inmunológico que ocurre tras el TPH. El desarrollo de la EICH implica un descenso de linfocitos T naive periféricos y su viabilidad debido a que los órganos linfoides también son atacados por los linfocitos alorreactivos. Por otro lado, los corticosteroides sistémicos usados en el tratamiento inducen la apoptosis de los timocitos, causando la involución del timo, que también se ve afectado por las infecciones (daño directo de los lipopolisacáridos de las bacterias gramnegativas intestinales o de las células epiteliales infectadas por citomegalovirus (CMV)). Por eso, la EICH per se, aun sin tratamiento, afecta a la reconstitución inmune. La reconstitución inmunológica en el TSCU se ha estudiado ampliamente en niños. Jacobson *et al.* realizaron un estudio prospectivo comparando 42 pacientes con TSCU frente a 102 DNE, en el que sugerían que el riesgo de infecciones está relacionado con la afectación de la reconstitución inmune de CD3, sobre todo dentro de los 3 primeros meses postrasplante. No había mayor riesgo de recaída, lo que sugería que el efecto de injerto contra leucemia se mantenía pese al menor número absoluto de



linfocitos T (los autores postulaban que quizás gracias a la más rápida reconstitución de linfocitos B y células natural killer (NK)) (Jacobson *et al*, 2012). La experiencia en adultos es más limitada. Cordón L. (2016) encontró que los linfocitos totales superaron el valor mínimo de referencia a los 9 meses pos-trasplante, pero los linfocitos T, sin embargo, no alcanzaron el valor medio de referencia hasta 2,5 años postrasplante. En cuanto a los linfocitos B y las células NK, alcanzaron el valor medio de referencia a los 6 y 3 meses postrasplante, respectivamente.

### **1.1.6. Complicaciones del TPH**

Si bien la EICH es actualmente la complicación más importante del TPH, existen muchas otras que pueden dificultar o enmascarar el diagnóstico. *Grosso modo*, las complicaciones se pueden agrupar en: infecciosas (víricas, bacterianas, fúngicas y parasitarias); toxicidad farmacológica (náuseas, vómitos, diarrea, mucositis, cistitis hemorrágica, hepatitis, etc.); inmunológicas (fallo del injerto, EICH, entre otras); síndromes de origen endotelial (síndrome del implante, síndrome de obstrucción sinusoidal, microangiopatía trombótica, etc.); recaída de la neoplasia que originó el trasplante; y la aparición de segundas neoplasias (tumores sólidos, leucemias secundarias, síndromes linfoproliferativos postrasplante) (Welniak *et al*, 2007). A continuación, se comentan las más representativas.

#### **1.1.6.1. Complicaciones infecciosas**

Las complicaciones infecciosas son una de las principales causas de muerte relacionadas con el procedimiento del trasplante.

##### **1.1.6.1.1. Infecciones bacterianas**

Son las más frecuentes en el primer mes tras el trasplante. El riesgo aumenta según la intensidad y duración de la neutropenia y de la alteración de las barreras anatómicas (mucositis, vías centrales). Los factores de riesgo más importantes son la inmunodepresión, la aparición de EICH y el tratamiento inmunosupresor. Los organismos más frecuentemente implicados entre las bacterias grampositivas son *Staphylococcus coagulasa* negativos, *Staphylococcus aureus*, *Streptococos*, *enterococos*, *Corynebacterium jeikeium* y *Listeria monocytogenes*, en las gramnegativas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* y *Capnocytophaga spp* (Carreras

et al, 2016). La EICH crónica cutánea predispone a la infección por *Staphylococcus aureus* y *Streptococo pyogenes* (Carreras et al, 2016).

### 1.1.6.1.2. Infecciones fúngicas

La incidencia descrita en los trabajos varía según los distintos centros de trasplante de acuerdo con múltiples factores tales como el área geográfica, el diagnóstico del paciente, el tipo de trasplante, los regímenes de acondicionamiento, el período de neutropenia y el tipo de profilaxis primaria empleada, entre otros. Los avances en profilaxis y tratamiento antifúngico han permitido mejorar la morbilidad y mortalidad asociada a estas infecciones.

### 1.1.6.1.3. Infecciones virales

Pueden producirse diversas infecciones víricas. Los virus más frecuentes son el virus herpes simple (VHS), virus varicela zoster (VVZ), virus herpes tipo 6 (HHV6), CMV, virus de Epstein-Barr (VEB), virus respiratorios (virus respiratorio sincitial, influenza, parainfluenza, adenovirus, metapneumovirus) y poliomavirus. Estos virus pueden producir síntomas respiratorios altos, infección de vías respiratorias bajas, neumonía, diarrea, hepatitis o cistitis hemorrágica. Los cuadros virales pueden producir exantemas cutáneos clínicamente similares a la EICH cutánea aguda.

### 1.1.6.1.4. Otras infecciones

Los pacientes trasplantados son más susceptibles a sufrir infecciones por *Mycobacterium tuberculosis*, *Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis jirovecii*, *Nocardia*, *Legionella* (Carreras et al, 2016).

### 1.1.6.2. **Toxicidad farmacológica**

El acondicionamiento, la profilaxis y tratamiento de las infecciones, así como los inmunosupresores utilizados para prevenir la EICH son los principales causantes de la toxicidad farmacológica. En general, los agentes quimioterapéuticos producen alopecia (efluvio anágeno), mucositis, náuseas, vómitos, diarrea, cistitis hemorrágica, hepatitis, entre otros. Los agentes antiinfecciosos pueden producir reacciones cutáneas desde exantemas morbiliformes hasta cuadros graves con necrosis y despegamiento cutáneo. Los inmunosupresores predisponen a las infecciones y producen alteraciones hematológicas entre muchos otros efectos secundarios.

#### 1.1.6.2.1 Toxicidad farmacológica cutánea

Las reacciones cutáneas por fármacos o toxicodermias cobran especial interés en los pacientes sometidos a un TPH, ya que debido a los múltiples fármacos que reciben, estas reacciones son muy frecuentes y pueden simular la EICH cutánea. Lo más frecuente es que se presenten como exantemas maculopapulares que son clínicamente indistinguibles de la EICH aguda, siendo este el principal diagnóstico diferencial. La mayoría de los casos son leves y autolimitados, y se resuelven al suspender el fármaco responsable. Sin embargo, una pequeña proporción de los casos se presenta de forma grave y puede comprometer la vida del paciente (Cho & Chu, 2017). Las reacciones graves por hipersensibilidad a fármacos se resumen en la Tabla 1.2.

En cuanto al tratamiento de las reacciones cutáneas por fármacos, la principal medida y la más eficaz es retirar el fármaco responsable si se ha podido identificar. No existe un tratamiento específico, por lo que el manejo se basa en la terapia de soporte, curas de heridas, balance hidroelectrolítico y nutricional, manejo de vía aérea y control del dolor. Debido a la baja frecuencia de reacciones graves por fármacos, los estudios y ensayos con posibles tratamientos son escasos. Entre los más empleados, aunque con escasa evidencia científica, son los corticosteroides sistémicos, inmunoglobulina intravenosa, ciclosporina A (CSA).

Tabla 1.2. Tipos de reacciones cutáneas graves por fármacos

| Tipo                                                            | Cuadro clínico                                                                                                   | Fármacos implicados                                                                                                        |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Síndrome de Stevens Johnson / Necrosis epidérmica tóxica</b> | Erupción cutánea máculopapular con lesiones en diana atípicas. Afectación de mucosas y despegamiento epidérmico  | Antibióticos, anticonvulsiantes, antiinflamatorios, alopurinol                                                             |
| <b>Síndrome de DRESS</b>                                        | Exantema macular morbiliforme, edema facial, fiebre, nefritis, pneumonitis, miocarditis, tiroiditis, eosinofilia | Anticonvulsiantes, antibióticos, antituberculosos, antivirales, sulfamidas, alopurinol                                     |
| <b>Pustulosis exantemática aguda generalizada</b>               | Pústulas estériles no foliculares sobre una base eritematosa, escasa afectación de mucosas                       | Aminopenicilinas, pristinamicina, quinolonas, sulfamidas, terbinafina, ketoconazol, fluconazol, hidroxycloquina, diltiazem |
| <b>Exantema fijo ampolloso generalizado</b>                     | Placas eritematosas o hiperpigmentadas con ampollas o erosiones                                                  | Antibióticos, sulfamidas, antiinflamatorios                                                                                |

DRESS: Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms.

### 1.1.6.3. Complicaciones inmunológicas

#### 1.1.6.3.1. Fallo del injerto

Supone una complicación potencialmente muy grave que se manifiesta en forma de pancitopenia o ausencia de recuperación de los valores hematológicos periféricos. Diversas causas contribuyen a su aparición (mala calidad de las CPH, alteración del nicho en la médula ósea, mayor grado de incompatibilidad HLA, infecciones, etc.) (Olsson *et al*, 2019). El concepto de rechazo del injerto se refiere a una reacción inmune producida por la disparidad genética, mediante la cual las células inmunes residuales del receptor rechazan a las células del donante. El fallo del injerto puede ser primario, en el que el paciente nunca consigue un valor de neutrófilos superior a 500/ $\mu$ L o secundario, tras un periodo inicial de injerto. Un fallo de injerto requiere un segundo TPH de rescate urgente.

#### 1.1.6.3.2. Enfermedad de injerto contra huésped

Dado que es el tema central de esta tesis, lo desarrollaremos extensamente en el apartado 1.2.

#### 1.1.6.4. Síndromes de origen endotelial pos-TPH

Se trata de diversas complicaciones derivadas del daño endotelial que comparten las siguientes características:

- Disfunción capilar de los órganos afectados
- Desarrollo en los primeros 60 días del trasplante
- Estado pro-inflamatorio y protrombótico

Entidades que se incluyen:

- Síndrome de hiperpermeabilidad capilar
- Síndrome del implante y del pre-implante
- Síndrome de obstrucción sinusoidal o enfermedad venooclusiva hepática
- Microangiopatía trombótica asociada al TPH
- Hemorragia alveolar difusa
- Síndrome de neumonía idiopática
- Síndrome de disfunción multiorgánica

Es relevante conocer estas complicaciones del TPH, ya que, tanto el síndrome del implante como del pre-implante, se pueden manifestar con un exantema cutáneo similar a la EICH aguda, aunque suelen acompañarse de fiebre no infecciosa y retención de fluidos de origen no cardíaco, lo que los diferencia de la EICH aguda (Grant *et al*, 2020).

Por otro lado, algunos autores sugieren que la EICH aguda debería ser incluida en este apartado, ya que cada vez existe más evidencia de que la disfunción endotelial observada es el origen de la EICH y no la consecuencia de esta.

#### 1.1.6.5. **Complicaciones a largo plazo**

- Enfermedad de injerto con huésped crónica
- Fertilidad reducida tanto en hombres como mujeres
- Fallo de medro y retraso del desarrollo en niños
- Hipotiroidismo
- Ansiedad y depresión
- Aparición de segundas neoplasias (ver apartado 1.1.6.6)

#### 1.1.6.6. **Segundas neoplasias**

Las segundas neoplasias sólidas son una complicación tardía poco común pero bien definida después de un alo-TPH. La aparición de estas tiene generalmente un periodo de latencia de 3 a 5 años (Ringden *et al*, 2014) y se han reportado tasas de incidencia acumulada de 1,2%–1,6% a los 5 años, de 2,2%–6,1% a los 10 años y de 3,8–14,9% a los 15 años después del trasplante (Danylesko & Shimoni, 2018; Rizzo *et al*, 2009). Las segundas neoplasias son responsables del 2-10% de las muertes en los supervivientes a largo plazo (Wingard *et al*, 2011). Los linfomas pos-TPH típicamente ocurren durante el primer año, mientras que las neoplasias mieloides (agudas y síndromes mielodisplásicos) ocurren algunos años tras el trasplante. Los tumores epiteliales no suelen aparecer hasta pasados 5 a 10 años (Wingard *et al*, 2011), siendo la incidencia entre 2,2% a 6,4% a los 10 años del trasplante (Ehrhardt *et al*, 2015). Los factores de riesgo asociados al desarrollo de neoplasias secundarias incluyen predisposición genética, edad al trasplante, regímenes de quimioterapia pre-trasplante, radiación corporal total, EICH crónica, inmunosupresores, género masculino, y estilos de vida (Ehrhardt *et al*, 2015; Rizzo *et al*, 2009). Los tipos de tumores sólidos reportados incluyen melanoma, tiroides, vía aérea superior, sistema nervioso central (SNC), pulmón, hígado, tracto gastrointestinal, cuello uterino, mama, testículo, hueso y tejido conectivo (Danylesko & Shimoni, 2018). La peor supervivencia está asociada a las neoplasias del SNC, pulmón e hígado (Ehrhardt *et al*, 2015). Por el contrario, más del 50% de los pacientes que desarrollaron neoplasias del sistema reproductivo masculino, tiroides, mama y melanoma cutáneo estaban vivos a los 5 años de seguimiento (Ehrhardt *et al*, 2015). La mayoría de los pacientes pueden recibir tratamiento estándar de las neoplasias secundarias. Se recomienda realizar despistaje

de neoplasias secundarias de por vida a todos los supervivientes a largo plazo de un TPH (Majhail *et al*, 2011; Danylesko & Shimoni, 2018).

#### **1.1.7.Recaída**

La recaída de la enfermedad de base es, sin duda, la primera causa de mortalidad tras el TPH, representando entre 27% a 57% (Horowitz *et al*, 2018; Wingard *et al*, 2011). Tiende a ocurrir entre el segundo y quinto año pos-TPH, bajando el riesgo posteriormente (Wingard *et al*, 2011). Según datos del Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR), la incidencia acumulada de recaída a los 10 años del TPH por enfermedades neoplásicas fue 10% para leucemia mieloide aguda (LMA), 9% para leucemia linfática aguda (LLA), 10% para síndromes mielodisplásicos (SMD), y 6% para linfomas. Múltiples estudios han mostrado que el estadio avanzado de la enfermedad al trasplante o enfermedad recurrente previa al trasplante son los factores más comúnmente asociados a recaídas. Otros factores observados incluyen la ausencia de EICH, peor estado general en el momento del trasplante, determinados regímenes de quimioterapia de acondicionamiento y depleción de células T del injerto (Wingard *et al*, 2011).

#### **1.1.8.Pronóstico del TPH**

Debido a las complicaciones del trasplante alogénico, este procedimiento tiene un 40% de mortalidad (Copelan, 2006). El mayor estudio multicéntrico de supervivencia realizado por el CIBMTR que incluyó a 10.632 pacientes, de los cuales 3.788 fueron seguidos durante más de 10 años mostró que el 80-92% de los supervivientes a 2 años del trasplante estaban vivos a los 10 años (Wingard *et al*, 2011). Según este estudio, los factores de riesgo para mortalidad tardía fueron mayor edad y la aparición de EICH crónica en los primeros 2 años del TPH. Las recaídas son la principal causa de mortalidad en los pacientes trasplantados por neoplasias, seguido de EICH crónica, infecciones, toxicidad de órganos y segundas neoplasias (Wingard *et al*, 2011). A medida que los pacientes sobreviven más tiempo tras el TPH, el riesgo de mortalidad decrece aproximándose al riesgo de la población general (Wingard *et al*, 2011).

## 1.2. Enfermedad injerto contra huésped

El contenido de esta sección se ha basado principalmente en una compilación de las revisiones más importantes sobre la EICH (Zeiser & Blazar, 2017a, 2017b), así como en los documentos de consenso propuestos por la American Society of Blood and Marrow Transplantation (Martin *et al*, 2012), el British Committee for Standards in Hematology y la British Society for Bone Marrow Transplantation (Dignan *et al*, 2012b, 2012a), el grupo Europeo de trasplante, la European LeukemiaNet (Ruutu *et al*, 2014) y el National Institutes of Health (Jagasia *et al*, 2015).

### 1.2.1. Introducción

Desde los primeros estudios experimentales realizados a mediados de la década de 1950 en ratones irradiados que eran trasplantados con células esplénicas de ratones alogénicos, se puso de manifiesto un síndrome secundario con afectación de la piel, diarrea y debilitamiento extremo llamado “*wasting syndrome*” que producía la muerte.

Actualmente se realizan más de 30.000 TPH por año a nivel mundial y a pesar del gran avance en la medicina del trasplante, la EICH continúa siendo la principal complicación y barrera para extender las indicaciones del alo-TPH.

### 1.2.2. Clasificación

Históricamente, la EICH se ha clasificado en aguda y crónica según el momento de inicio de los síntomas, utilizando un límite arbitrario de 100 días. Sin embargo, esta división convencional ha sido cuestionada ya que los signos de EICH aguda y crónica pueden ocurrir fuera de estos períodos e incluso pueden solaparse. En 2005 y posteriormente en 2014, los criterios de consenso del National Institutes of Health (NIH) definieron la EICH aguda y crónica en función de las manifestaciones clínicas en lugar del criterio cronológico. Siguiendo estos criterios, actualmente se reconocen las siguientes variantes de EICH (Filipovich *et al*, 2005), resumidas en la Tabla 1.3 y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**



- **EICH aguda clásica**: manifestaciones clínicas de EICH aguda (descritas en el apartado 1.2.3.3) que se presentan dentro de los 100 días posteriores a un alo-TPH. Las características diagnósticas y/o distintivas de EICH crónica deben estar ausentes (descritas en el apartado 1.2.4.3 y Tabla 1.18). Se han preconizado los términos de **EICH aguda de aparición temprana** o **EICH hiperaguda** para describir los síntomas de EICH aguda que se manifiestan dentro de los primeros 14 días del trasplante (Saliba *et al*, 2006; Kim *et al*, 2004). Este tipo de EICH precoz es poco frecuente desde la incorporación de la profilaxis frente a EICH (Sullivan *et al*, 1986).
- **EICH aguda tardía**: aparición de síntomas de EICH aguda (descritas en el apartado 1.2.3.3) más allá de los 100 días después de un alo-TPH, estando ausentes las características de diagnóstico de EICH crónica (descritas en el apartado 1.2.4.3 y Tabla 1.18). Dentro de este grupo, se engloban otras 2 posibles situaciones:
  - **EICH aguda recurrente**: EICH aguda resuelta que recurre pasado los 100 primeros días desde el trasplante.
  - **EICH aguda persistente**: EICH aguda que se prolonga pasados los 100 días del trasplante.
- **EICH crónica clásica**: aparición de manifestaciones diagnósticas y/o distintivas de EICH crónica (descritas en el apartado 1.2.4.3 y Tabla 1.18) en cualquier momento después del trasplante, sin la presencia de síntomas de EICH aguda.
- **Síndrome de superposición**: aparición de síntomas con características tanto de EICH aguda como de EICH crónica en cualquier momento después de un alo-TPH. Algunos autores utilizan el término “*acute on chronic*”.

Tabla 1.3. Clasificación y subtipos de EICH aguda y crónica.

| Tipo                                    | Tiempo desde TPH     | Signos o síntomas de EICH aguda | Signos o síntomas de EICH crónica |
|-----------------------------------------|----------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| <b>EICH aguda</b>                       |                      |                                 |                                   |
| <b>Clásica</b>                          | ≤ 100 días           | Sí                              | No                                |
| <b>Tardía, persistente o recurrente</b> | > 100 días           | Sí                              | No                                |
| <b>EICH crónica</b>                     |                      |                                 |                                   |
| <b>Clásica</b>                          | Sin límite de tiempo | No                              | Sí                                |
| <b>Síndrome de overlap</b>              | Sin límite de tiempo | Si                              | Sí                                |

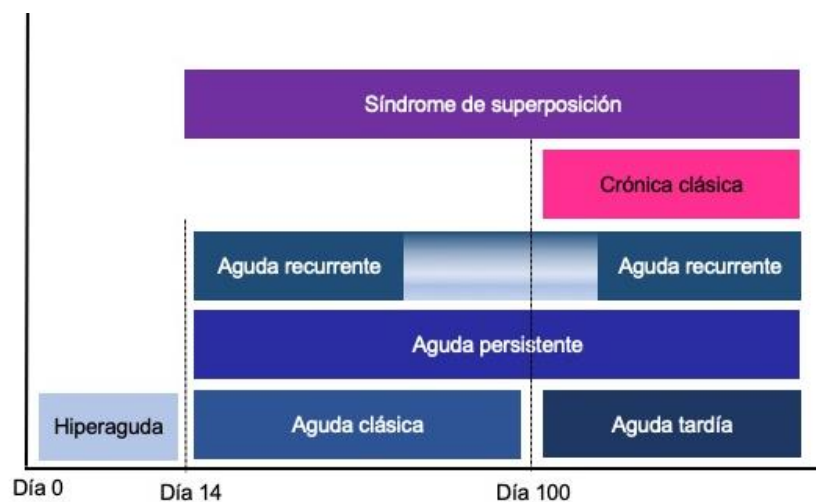


Figura 1.3. Esquema cronológico de las variantes de EICH

### 1.2.3. Enfermedad injerto contra huésped aguda

#### 1.2.3.1. Fisiopatología de la EICH aguda

La EICH es la consecuencia de un proceso complejo que ocurre en varias etapas. Estudios en animales han permitido dilucidar algunas fases, sin embargo, muchas otras continúan siendo desconocidos. Según el modelo de Billingham, son necesarios tres factores para el desarrollo de la EICH (Goker *et al*, 2001):

- 1) El injerto debe contener células inmunológicamente competentes.

- 2) El receptor debe tener aloantígenos que están ausentes en el injerto y son reconocidos como extraños por los linfocitos del injerto.
- 3) El receptor es incapaz de desarrollar una respuesta inmune contra el injerto durante un período de tiempo suficiente para permitir que las células del injerto ataquen al receptor.

La EICH es principalmente una enfermedad mediada por linfocitos T. En el contexto del alo-TPH, las principales dianas antigénicas de los linfocitos T del injerto son las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) del receptor. Los antígenos más importantes son los HLA clase I (A, B y C) y clase II (DR, DQ y DP). Pero esto sólo ocurre si las moléculas del MHC del paciente y del donante difieren, como ocurre en los trasplantes no idénticos. Sin embargo, en los trasplantes con HLA idéntico, la diferencia en otros antígenos, denominados antígenos de histocompatibilidad menor, parece ser la base para el desarrollo de la EICH (Sung & Chao, 2013).

Ferrara conceptualizó la fisiopatología de la EICH aguda en tres fases. La primera fase ocurre incluso antes del TPH, como consecuencia del daño causado en los tejidos por el régimen de acondicionamiento e infecciones lo que produce la liberación de antígenos. En el desarrollo inicial de la EICH, el daño a nivel del tracto gastrointestinal parece jugar un papel fundamental (Hill & Ferrara, 2000) ya que la inflamación además favorece la translocación de péptidos bacterianos que actúan también como antígenos. La exposición de antígenos facilita su reconocimiento por las células del sistema inmune lo que conlleva la liberación citoquinas proinflamatorias como el TNF $\alpha$  y la IL-1. Estas citoquinas activan las células presentadoras de antígeno (CPA) del receptor que son muy resistentes al acondicionamiento por su baja capacidad proliferativa.

En la segunda fase, las CPA presentan antígenos a los linfocitos T del donante (presentación directa) mediante uniones TCR-péptido-MHC y una segunda señal coestimuladora. Existe también la posibilidad de que este proceso lo lleven a cabo las CPA del donante (presentación indirecta). Esto lleva a la activación de los linfocitos T que secretan IL-2 y expresan el receptor de esta citoquina. Bajo el efecto autocrino de la IL-2, las células T proliferan y se diferencian a células efectoras, que liberan una variedad de citoquinas proinflamatorias, incluido el TNF $\alpha$ , un potente mediador proinflamatorio e INF $\gamma$  (Sung & Chao, 2013; Ferrara *et al*, 2003; Goker *et al*, 2001).

Estas 2 primeras fases representan el brazo aferente de la EICH. El brazo eferente lo conforma la tercera fase.

En la tercera fase, están involucrados varios mecanismos complejos que son responsables del daño a los órganos diana de forma directa o indirecta. Los linfocitos tanto CD4<sup>+</sup> como CD8<sup>+</sup> una vez activados, secretan varias citoquinas inflamatorias como IL-2, factor de estimulación de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) e INF $\gamma$ . En general se acepta el paradigma de que las citoquinas Th1 (IL-2 e INF $\gamma$ ) inducen la EICH y son deletéreas, mientras que las citoquinas Th2 (IL-4 e IL-10) son supresivas y protectoras, aunque la evidencia es contradictoria (Goker *et al*, 2001). En los órganos diana, el primer fenómeno que se produce es una infiltración tisular por parte de los neutrófilos del receptor, que son productores de reactantes de oxígeno (Schwab *et al*, 2019). Hay estudios que relacionan la concentración de neutrófilos en los tejidos afectados con un peor pronóstico (Socié *et al*, 2004). El daño de las células del huésped por las células T activadas se produce mediante citolisis dependiente de perforina/granzima, apoptosis mediada por Fas (Maeda *et al*, 2005) y por citoquinas como el TNF $\alpha$ . La secreción de este último es amplificada por otros estímulos como la translocación de endotoxinas a través de la mucosa gastrointestinal dañada. El TNF $\alpha$  y el INF $\gamma$  dañan aún más el epitelio gastrointestinal, favoreciendo el paso de endotoxinas, estableciéndose un espiral de inflamación denominado “*tormenta de citoquinas*” (Ferrara *et al*, 2003). La distribución del daño en los tejidos no es uniforme, afectando sobre todo a la epidermis, el epitelio periductal hepático y la base de las criptas intestinales.

Por otro lado, las células NK podrían tener un papel protector de la EICH, pues actuarían eliminando las CPA del receptor disminuyendo así el fenómeno de presentación directa de antígenos (Ruggeri *et al*, 2002). Así mismo, las células T reguladoras parecen ser importantes para controlar la respuesta final de la EICH (Whangbo *et al*, 2020).

La Figura 1.4 muestra un esquema de la fisiopatología de la EICH aguda, así como las células y citoquinas implicadas en el complejo proceso inmunológico que desencadena la enfermedad.

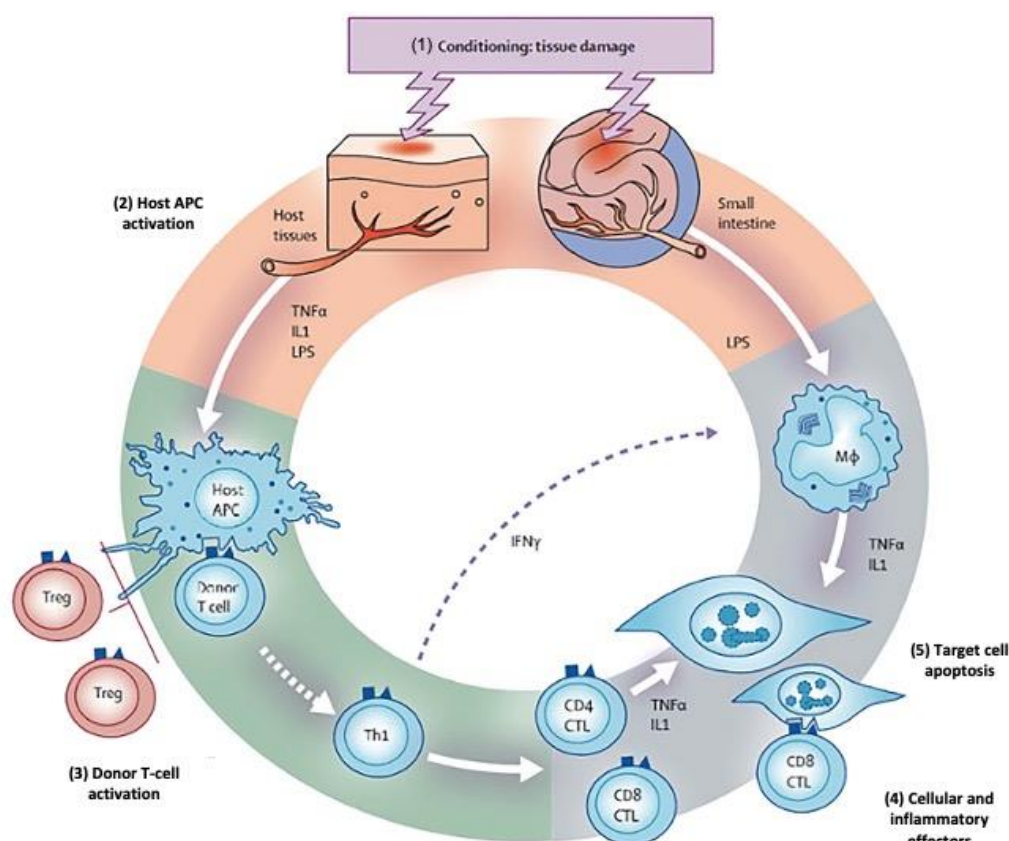


Figura 1.4. Fisiopatología de la enfermedad de injerto contra huésped.

(1) El daño tisular producido por la quimioterapia, radiación e infecciones genera la liberación de antígenos y citoquinas proinflamatorias. (2) Activación de las CPA. (3) Las células T son activadas por las CPA mediante la unión del TCR-antígeno-MHC y otras señales coestimuladoras. (4) Una vez activadas, las células T proliferan y se diferencian en varios subtipos produciendo efectos inflamatorios. (5) Las células T migran a los órganos diana, donde causan la destrucción de tejidos a través de citólisis, apoptosis y liberación de citoquinas. Estas células inflamatorias y citoquinas pueden propagar aún más el ciclo de la EICH (Dhir *et al*, 2014).

### 1.2.3.2. Epidemiología y factores de riesgo

No es posible establecer la incidencia exacta de EICH aguda debido a la enorme variabilidad en la identificación, medición y documentación de dicha complicación. Así como también por las diferencias en la incidencia de factores de riesgo que son propias de cada modalidad de alo-TPH y en las medidas preventivas utilizadas. *Grosso modo*, las cifras aceptadas son 60% en alo-TPH emparentado HLA idéntico (Weisdorf *et al*, 1991) y 80% en el trasplante de DNE (Beatty *et al*, 1991). La incidencia de EICH aguda grados II-IV varía del 20-40% en trasplantes de hermano HLA idéntico al 30-50% en DNE. Las formas más graves (grados III-IV) ocurren en el

20% de los trasplantes de hermano HLA idéntico y en el 35% de los DNE (Champlin *et al*, 2000; McGlave *et al*, 2000). El tiempo medio para su desarrollo varía según el acondicionamiento del trasplante, siendo de unos 17 días en los regímenes mieloablativos (Martin *et al*, 1990), pero de 3 meses en los AIR, siendo en estos últimos típica su aparición al reducir el tratamiento inmunosupresor. Los factores de riesgo más reconocidos para el desarrollo de una EICH aguda se resumen en la Tabla 1.4.

Tabla 1.4. Factores de riesgo de EICH aguda.

| <b>Factor</b>                                       | <b>Mayor riesgo de EICH aguda si:</b>                        |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>Compatibilidad donante/receptor</b>              | Diferencias en HLA o DNE                                     |
| <b>Allosensibilización de donantes</b>              | Mujeres con embarazos previos o transfusiones                |
| <b>Edad del paciente y del donante</b>              | Mayor edad                                                   |
| <b>Relación sexo donante/receptor</b>               | Donante mujer a receptor varón                               |
| <b>Régimen de acondicionamiento</b>                 | Mayor intensidad (mieloablativo)                             |
| <b>Tipo de progenitores (origen de las células)</b> | Sangre periférica > médula ósea > sangre de cordón umbilical |
| <b>Cantidad de linfocitos T del inóculo</b>         | Sin DLT > depleción parcial > depleción total                |
| <b>Si selección positiva CD34+</b>                  | Mayor celularidad CD34+                                      |
| <b>Tipo de profilaxis EICH</b>                      | No profilaxis > CSA o MTX > CSA + MTX > DLT                  |
| <b>Grado cumplimiento profilaxis</b>                | Falta de administración de dosis previstas                   |
| <b>Serología CMV</b>                                | Receptor CMV - / Donante CMV +                               |
| <b>Descontaminación intestinal</b>                  | Ninguna > selectiva > total                                  |

HLA: human leukocyte antigen; DNE: donante no emparentado; DLT: depleción de linfocitos T; CSA: ciclosporina A; MTX: metotrexato; CMV: citomegalovirus; -: negativo; +: positivo. Adaptado de (Carreras *et al*, 2016).

Otros factores de riesgo descritos incluyen el tipo de enfermedad que motiva el TPH, un alo-TPH previo, la seropositividad VEB del donante y las comorbilidades pre-trasplante.

### 1.2.3.3. **Manifestaciones clínicas y gravedad por órganos**

Los signos y síntomas iniciales de la EICH aguda ocurren con mayor frecuencia en el momento del injerto leucocitario. La piel, el tracto gastrointestinal y el hígado son los principales órganos implicados en la EICH aguda (Tabla 1.5). No obstante, otros órganos como el sistema hematopoyético, ojos, riñones y pulmones pueden también verse afectados.

- **Piel:** la piel es el órgano más frecuentemente afectado y la primera manifestación en la mayoría de los pacientes. Tres de cada 4 pacientes tendrán afectación cutánea (MacMillan *et al*, 2015). Esta se caracteriza por una erupción maculopapular, que generalmente ocurre en el momento del injerto leucocitario o cerca de este. La erupción clásicamente se inicia en la nuca, zona retroauricular, hombros, palmas y las plantas, pudiendo ser pruriginosa o dolorosa. A partir de estas áreas, la erupción puede extenderse y confluir afectando a todo el tegumento.
  - Dado que esta tesis está precisamente enfocada a la caracterización clínica, histológica y biológica de la EICH, tanto aguda como crónica, dedicaremos un apartado específico de esta introducción a describir con detalle los conocimientos actuales de las manifestaciones cutáneas de la EICH aguda (ver apartado 1.2.5 “Manifestaciones cutáneas de la EICH aguda”).
- **Tracto gastrointestinal:** el tubo digestivo se ve afectado aproximadamente en la mitad de los pacientes. La afectación gastrointestinal generalmente se presenta con diarrea y dolor abdominal, pero también puede manifestarse como náuseas, vómitos, anorexia e íleo paralítico. La confirmación del diagnóstico se realiza mediante el estudio histológico del tejido obtenido mediante endoscopia, colonoscopia o biopsia rectal.
  - La mayoría de los casos de EICH aguda del tracto gastrointestinal se pueden identificar mediante biopsia rectal (Ross *et al*, 2008; Aslanian *et al*, 2012; Sultan *et al*, 2012). Sin embargo, una biopsia rectal negativa no la descarta. Se debe realizar una evaluación adicional con endoscopia y/o colonoscopia en pacientes con síntomas clínicos, aunque la biopsia rectal no muestre signos de EICH.
  - Una vez diagnosticado, el grado de afectación gastrointestinal se clasifica según la gravedad de la diarrea de la siguiente manera (Tabla 1.5):

- Grado 1 - Diarrea de 500-1000 ml/día
  - Grado 2 - Diarrea 1000-1500 ml/día
  - Grado 3 - Diarrea 1500-2000 ml/día
  - Grado 4: diarrea > 2000 ml/día o dolor o íleo paralítico
- **Hígado:** el hígado es el órgano menos frecuentemente afectado. Está comprometido en el 20% de pacientes con EICH aguda cutánea, gastrointestinal o ambas, sin embargo, confiere peor pronóstico. En raras ocasiones la afectación hepática es moderada a grave sin la afectación de otros órganos. Se manifiesta mediante un aumento de los niveles séricos de bilirrubina conjugada y fosfatasa alcalina, es decir un patrón colestásico. El colesterol sérico suele estar elevado, mientras que la coagulopatía y la hiperamonemia son muy poco frecuentes y solo están presentes en casos graves. También puede producir hepatomegalia dolorosa, coluria, acolia, retención de líquidos y prurito.
    - Las anomalías en las pruebas de función hepática (PFH) en el contexto del trasplante son muy comunes por lo que el diagnóstico de certeza requiere de una biopsia hepática. Cuando se realiza, la vía de acceso puede ser transyugular o percutánea.
    - En este contexto, el diagnóstico diferencial se plantea con otras causas de alteración de PFH:
      - El síndrome obstructivo sinusoidal hepático o enfermedad veno-oclusiva hepática
      - Hepatitis infecciosa
      - Toxicidad medicamentosa producida por el acondicionamiento, profilaxis y/o tratamiento de infecciones
    - El grado de afectación hepática se clasifica según el nivel plasmático de bilirrubina total de la siguiente manera (Tabla 1.5 Tabla 1.5. Resumen de la gravedad de la EICH aguda por órgano.):
      - Grado 1 – Bilirrubina 2-3 mg/dL
      - Grado 2 – Bilirrubina 3,1-6 mg/dL



- Grado 3 – Bilirrubina 6,1-15 mg/dL
  - Grado 4 – Bilirrubina >15 mg/dL
- **Otros órganos:** Con menor frecuencia, se ha descrito la afectación de otros órganos:
    - **Sistema hematopoyético:** atrofia del timo, citopenias e hipogammaglobulinemia (especialmente deficiencia de IgA)
    - **Ocular:** fotofobia, conjuntivitis hemorrágica y lagofthalmos
    - **Renal:** nefritis o síndrome nefrótico
    - **Pulmonar:** neumonitis intersticial

Tabla 1.5. Resumen de la gravedad de la EICH aguda por órgano.

| Órgano           | Grado 1                 | Grado 2                  | Grado 3                  | Grado 4                                          |
|------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------------------------|
| <b>Piel</b>      | Exantema < 25% SCT      | Exantema 25-50% SCT      | Eritrodermia             | Eritrodermia con ampollas                        |
| <b>Intestino</b> | Diarrea 500-1000 ml/día | Diarrea 1000-1500 ml/día | Diarrea 1500-2000 ml/día | Diarrea > 2000 ml/día<br>Dolor o íleo paralítico |
| <b>Hígado</b>    | Bilirrubina 2-3 mg/dl   | Bilirrubina 3,1-6 mg/dl  | Bilirrubina 6,1-15 mg/dl | Bilirrubina > 15 mg/dl                           |

SCT: superficie corporal total

#### 1.2.3.4. **Gradación global y pronóstico de la EICH aguda**

La extensión y gravedad global de la EICH aguda se determina evaluando conjuntamente el grado de afectación cutánea, hepática y gastrointestinal (Tabla 1.5). Los estadios de la afectación individual de estos órganos se combinan para establecer un grado general, que tiene importancia en el pronóstico. Se han desarrollado varios sistemas para clasificar la EICH aguda. El primero fue introducido en 1974 por Glucksberg a partir de una serie de 61 pacientes trasplantados de los cuales 43 desarrollaron EICH aguda (Tabla 1.6, Tabla 1.7) (Glucksberg *et al*, 1974). Posteriormente, fue modificado por Thomas en 1975 (Tabla 1.8, Tabla 1.9) (Thomas *et*

*al*, 1975). Según Thomas, los grados III y IV se distinguirían según la gravedad cutánea o intestinal, la aspartato aminotransferasa (AST) se retiró del sistema de gradación hepático y el dolor abdominal severo o íleo paralítico se considerarían estadio 4 gastrointestinal. En la conferencia de consenso de 1994 se propuso un sistema de Glucksberg modificado (Tabla 1.10, Tabla 1.11) (Przepiorka *et al*, 1995) donde se dejó de incluir el desempeño funcional en el sistema de gradación de la EICH aguda y se consideró la presencia de náuseas o vómitos persistentes con evidencia histológica de EICH como grado 1 gastrointestinal. El sistema de Glucksberg continúa siendo el más utilizado, pero a pesar de que tiene valor pronóstico, es complejo. En este sistema, cada uno de los tres órganos afectados (piel, tracto gastrointestinal e hígado) se gradúan de 0 a 4 (Tabla 1.6). Estos estadios se combinan para calcular la gravedad global (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Existen 125 posibles combinaciones de afectación de órganos y severidades. En la gravedad global, 62 de las posibles combinaciones no están definidas. Otra de sus limitaciones es que no explica la diversidad de desenlaces dentro de un mismo grado de severidad (Martino *et al*, 1999). Adicionalmente, este sistema tiene una significativa variedad interobservador. Debido a esto, es frecuente que en la práctica habitual se dicotomice la severidad en grados clínicamente no significativos (0-I) y grados clínicamente significativos (II-IV) (Cahn *et al*, 2005).

Tabla 1.6. Gravedad por órganos según el índice de Glucksberg clásico.

| Estadio | Piel<br>(Exantema SCT)                                 | Hígado<br>(Bilirrubina mg/dl)     | Intestino<br>(Diarrea ml/día) |
|---------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| 1       | < 25%                                                  | 2 – 3 y AST 150 – 750 UI          | > 500                         |
| 2       | 25 – 50%                                               | 3 – 5,9 con o sin aumento de AST  | > 1000                        |
| 3       | Eritrodermia generalizada                              | 6 – 14,9 con o sin aumento de AST | > 1500                        |
| 4       | Eritrodermia con ampollas y frecuentemente descamación | > 15 con o sin aumento de AST     | > 2000                        |

SCT: superficie corporal total; AST: aspartato aminotransferasa; el cálculo de la superficie se realiza empleando la regla de los nueve para adultos: cabeza 9%, torso 36% (9% tórax anterior, 9% tórax posterior, 9% abdomen anterior, 9% abdomen posterior), extremidades superiores 9% cada una, extremidades inferiores 18% cada una. La palma de la mano representa un 1% de la SCT (Glucksberg *et al*, 1974).

Tabla 1.7. Gradación global según el índice de Glucksberg clásico.

| Grado | Piel  |     | Intestino |     | Hígado | Performance status                                                                     |
|-------|-------|-----|-----------|-----|--------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| I     | 1 – 2 | y   | 0         | y   | 0 – 1  | Sin disminución del desempeño clínico ni fiebre                                        |
| II    | 1 – 3 | y/o | 1 – 2     | y/o | 1 – 2  | Disminución leve del desempeño clínico                                                 |
| III   | 2 – 4 | y   | 2 – 4     | y/o | 2 – 4  | Disminución moderada del desempeño clínico                                             |
| IV    | 2 – 4 | y/o | 2 – 4     | y/o | 2 – 4  | Disminución grave del desempeño clínico y síntomas constituciones severos <sup>1</sup> |

<sup>1</sup>Un índice de Karnofsky menor de 30 es un grado IV (Glucksberg *et al*, 1974).

Tabla 1.8. Gravedad por órganos según el índice de Glucksberg modificado por Thomas (1975).

| Estadio | Piel<br>(Exantema SCT)                  | Hígado<br>(Bilirrubina mg/dl) | Intestino<br>(Diarrea ml/día)   |
|---------|-----------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1       | < 25%                                   | 2 – 3 (no AST)                | > 500                           |
| 2       | 25 – 50%                                | 3 – 6                         | > 1000                          |
| 3       | Eritrodermia generalizada               | 6 – 15                        | > 1500                          |
| 4       | Eritrodermia con ampollas y descamación | > 15                          | Dolor abdominal severo y/o íleo |

SCT: superficie corporal total; AST: aspartato aminotransferasa.

En rojo se señalan las diferencias con el índice de Glucksberg clásico (Thomas *et al*, 1975).

Tabla 1.9. Gradación global según el índice de Glucksberg modificado por Thomas (1975).

| Grado | Piel  |     | Intestino |     | Hígado | Performance status                              |
|-------|-------|-----|-----------|-----|--------|-------------------------------------------------|
| I     | 1 – 2 | y   | 0         | y   | 0      | Sin disminución del desempeño clínico ni fiebre |
| II    | 1 – 3 | y/o | 1         | y/o | 1      | Disminución leve del desempeño clínico          |
| III   | 2 – 3 | y/o | 2 – 3     | y/o | 2 – 4  | Disminución moderada del desempeño clínico      |
| IV    | 2 – 4 | y/o | 2 – 4     | y/o | –      | Disminución grave del desempeño clínico         |

En rojo se señalan las diferencias con el índice de Glucksberg clásico (Thomas *et al*, 1975).

Tabla 1.10. Gravedad por órganos según el índice de Glucksberg modificado por la conferencia de consenso de 1994.

| Estadio | Piel<br>(Exantema SCT)                  | Hígado<br>(Bilirrubina mg/dl) | Intestino<br>(Diarrea ml/día)             |
|---------|-----------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------------|
| 1       | < 25%                                   | 2 – 3                         | > 500 o náuseas persistentes <sup>1</sup> |
| 2       | 25 – 50%                                | 3 – 6                         | > 1000                                    |
| 3       | > 50%                                   | 6 – 15                        | > 1500                                    |
| 4       | Eritrodermia con ampollas y descamación | > 15                          | Dolor abdominal severo o íleo             |

<sup>1</sup>Náuseas persistentes con evidencia histológica de EICH en el estómago o duodeno.

En rojo se señalan las diferencias con el índice de Glucksberg (Przepiorka *et al*, 1995).

Tabla 1.11. Gradación global según el índice de Glucksberg modificado por la conferencia de consenso de 1994.

| Grado | Piel  |     | Intestino |     | Hígado |
|-------|-------|-----|-----------|-----|--------|
| I     | 1 – 2 | y   | 0         | y   | 0      |
| II    | 3     | y/o | 1         | y/o | 1      |
| III   | –     | y/o | 2 – 3     | y/o | 2 – 4  |
| IV    | 4     | y/o | 4         | y/o | –      |

En rojo se señalan las diferencias con el índice de Glucksberg modificado por Thomas (Przepiorka *et al*, 1995).

Posteriormente, en 1997, el International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) describió un nuevo modelo de graduación (Tabla 1.12) para intentar simplificar y facilitar la comparación entre diferentes centros y estudios (Rowlings *et al*, 1997). Este sistema mantuvo los criterios de graduación de cada órgano, pero excluyó el criterio subjetivo de estado general y modificó ligeramente el cómputo de la graduación global.

Tabla 1.12. Sistema de clasificación de EICH aguda del IBMTR.

| Índice   | Piel                   |              | Hígado              |       |        | Intestino        |       |                                          |
|----------|------------------------|--------------|---------------------|-------|--------|------------------|-------|------------------------------------------|
|          | Exantema máculopapular |              | Bilirrubina (mg/dl) |       |        | Diarrea (ml/día) |       |                                          |
| <b>A</b> | <b>1</b>               | < 25% SCT    | y                   | 0     | < 2    | y                | 0     | < 500                                    |
| <b>B</b> | <b>2</b>               | 25 – 50% SCT | y/o                 | 1 – 2 | 2 – 6  | y/o              | 1 – 2 | 550-1500                                 |
| <b>C</b> | <b>3</b>               | > 50% SCT    | y/o                 | 3     | 6 – 15 | y/o              | 3     | >1500                                    |
| <b>D</b> | <b>4</b>               | Ampollas     | y/o                 | 4     | > 15   | y/o              | 4     | Dolor abdominal severo o íleo paralítico |

SCT: superficie corporal total. (Rowlings *et al*, 1997).

Según el índice de Glucksberg y la escala del IBMTR, la EICH leve corresponde a los grado I o A, la EICH moderada a los grados II o B, la EICH grave a los grado III o C y la EICH muy grave o potencialmente mortal a los grados IV o D (Tabla 1.13) (Przepiorka *et al*, 1995), (Cahn *et al*, 2005). Ambas clasificaciones explican la variabilidad en la supervivencia según el grado de EICH aguda con algunas diferencias. Por un lado, la clasificación de Glucksberg predice mejor la supervivencia temprana. Por otro, el IBMTR explica las diferencias en los desenlaces (Rowlings *et al*, 1997) en pacientes con el mismo grado pero distinto patrón de afectación de órganos (piel, hígado y gastrointestinal) (Rowlings *et al*, 1997). Con ambos sistemas, solo el grado máximo observado tiene significancia pronóstica para la supervivencia (Cahn *et al*, 2005). En general, la supervivencia a largo plazo es de más del 80% para los grados I-II (Glucksberg) o A-B (IBMTR); 30% para los grados III o C y de menos del 5% para los grados IV o D (Cahn *et al*, 2005).

Tabla 1.13. Comparación de los sistemas de clasificación de Glucksberg y del IBMTR.

| Grado IBMTR | Grado Glucksberg | Piel  | Intestino | Hígado |
|-------------|------------------|-------|-----------|--------|
| A           | I                | 1     | 0         | 0      |
| B           | I                | 2     | 0         | 0      |
| B           | II               | 0 – 2 | 1         | 0 – 1  |
| B           | II               | 0 – 2 | 0 – 1     | 1      |
| C           | II               | 3     | 1         | 0 – 1  |
| C           | II               | 3     | 0 – 1     | 1      |
| C           | II               | 3     | 0         | 0      |
| B           | III              | 0 – 2 | 2         | 0 – 2  |
| B           | III              | 0 – 2 | 0 – 2     | 2      |
| C           | III              | 0 – 3 | 0 – 3     | 2 – 3  |
| C           | III              | 3     | 2 – 3     | 0 – 3  |
| D           | III              | 0 – 3 | 0 – 3     | 4      |
| D           | IV               | 0 – 3 | 4         | 0 – 4  |
| D           | IV               | 4     | 0 – 4     | 0 – 4  |

En 2015, MacMillan *et al.* publicaron la clasificación de gravedad de Minnesota basada en el número de órganos afectados y la gravedad de cada uno al inicio de la EICH (Tabla 1.14). Esta última escala de gravedad se ha validado recientemente en una cohorte de 355 pacientes en la que se observó un riesgo tres veces mayor de refractariedad al tratamiento con corticoesteroides en el grupo de alto riesgo. Así también, este grupo presentó 2 veces mayor riesgo de mortalidad global y mortalidad relacionada con el trasplante (MRT) (MacMillan *et al.*, 2019). Los autores han desarrollado una herramienta “on-line” para calcular este índice de riesgo, disponible en <https://redcap.ahc.umn.edu/surveys/?s=bNmFhseJlf>.

Tabla 1.14. Índice de gravedad de Minnesota (MacMillan).

| EICH riesgo estándar                                                                                                                                                                                                                                               | EICH alto riesgo                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Un solo órgano afecto:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Piel estadio 1 – 3</li> <li>• GI estadios 1 – 2 (incluye GI alto aislado, GI bajo estadio 1 – 2 aislado, o alto y bajo estadio 1)</li> </ul>                                                | <b>Un solo órgano afecto:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Piel estadio 4</li> <li>• GI estadios 3 – 4</li> <li>• Hígado estadio 1 – 4</li> </ul>                                                                                                                        |
| <b>Dos órganos afectados:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Piel estadios 1 – 3 más GI estadio 1 (incluye GI alto aislado, intestinal estadio 1 aislado o GI alto y bajo estadio 1)</li> <li>• Piel estadios 1 – 3 más hígado estadios 1 – 4</li> </ul> | <b>Dos órganos afectados:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Piel estadios 1 – 3 más GI estadio 2</li> <li>• GI bajo estadios 1 – 2 más hígado estadios 1 – 3</li> <li>• GI estadios 3 – 4 más piel estadios 1 – 3</li> <li>• GI estadios hígado estadios 1 – 4</li> </ul> |
|                                                                                                                                                                                                                                                                    | <b>Tres órganos afectados:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Piel estadios 1 – 3 más GI estadios 1 – 2 más hígado estadios 1 – 3</li> <li>• Piel estadios 1-3 más GI estadios 3 -4 más hígado estadios 1 – 4</li> </ul>                                                   |

Independientemente del sistema de clasificación de gravedad utilizado, se recomienda que en los ensayos clínicos se describa el método utilizado y que no se referencie un sistema de gradación específico a menos que se siga exactamente como fue publicado (Przepiorka *et al*, 1995). Se recomienda además que se recoja el grado de severidad de forma semanal, así como información respecto a los diagnósticos diferenciales. Algunos autores, ‘descuentan’ el órgano afectado si los síntomas pueden estar explicados por otro diagnóstico no EICH (Martin *et al*, 1990) otros proponen bajar un grado de severidad (Weisdorf, 2008).

#### 1.2.3.5. Métodos de diagnóstico

A día de hoy no existe ninguna prueba diagnóstica específica de EICH por lo que el diagnóstico es esencialmente clínico y debe considerarse en cualquier paciente que se haya sometido a un alo-TPH y que presente síntomas como erupción cutánea, dolor abdominal, diarrea y un aumento de bilirrubina sobre todo si estos síntomas ocurren en los primeros 100 días después del trasplante (especialmente entre 2 a 6 semanas pos-TPH) o al reducir el tratamiento inmunosupresor (Goker *et al*, 2001). Una de las dificultades del diagnóstico es que en muchos casos los síntomas son sutiles y además las mismas manifestaciones clínicas pueden estar producidas por múltiples

otras causas. Por ejemplo, una erupción cutánea puede ser causada por procesos virales y por una gran variedad de medicamentos administrados durante el proceso del trasplante (quimioterapia, antibióticos, inmunosupresores, etc.). A su vez, la diarrea puede ser secundaria a la mucositis producida por la quimioterapia o ser de origen infecciosa. Lo mismo ocurre con la hiperbilirrubinemia, que puede estar relacionada con disfunción de la vía biliar, síndromes de obstrucción sinusoidal pos-TPH, hepatotoxicidad medicamentosa o hepatitis infecciosas.

Por ello, en muchas ocasiones se recurre al estudio histológico mediante biopsia de los órganos diana. Sin embargo, así como ocurre con las manifestaciones clínicas, los hallazgos histológicos tampoco son patognomónicos de EICH, pero pueden apoyar al diagnóstico si hay una correlación clínico-patológica.

Por otro lado, la biopsia, sea cutánea, intestinal o hepática, es un método invasivo y no exento de complicaciones como infecciones o hemorragia. Además, los pacientes en el periodo pos-TPH están inmunodeprimidos y sufren citopenias que los predisponen a complicaciones en procedimientos invasivos. La rentabilidad de obtener una biopsia debe ser sopesada en cada caso en particular.

Por ser uno de los temas centrales de estas tesis, las características histológicas de la EICH cutánea aguda se detallan en el apartado 1.2.5.5. y las de EICH cutánea crónica en el apartado 1.2.6.8.

### 1.2.3.6. **Biomarcadores de EICH aguda**

Como comentado anteriormente, el diagnóstico de la EICH aguda continúa siendo clínico, basado en los síntomas, valores de laboratorio e histología de los órganos afectados, siendo las manifestaciones a todos los niveles inespecíficas. Es por esto que el estudio de biomarcadores no invasivos de sangre periférica es una de las áreas de mayor interés en la investigación en EICH.

El grupo de trabajo sobre biomarcadores para el proyecto de desarrollo de un consenso del NIH sobre criterios para ensayos clínicos en EICH y el Consorcio de América del Norte y Europa han propuesto la siguiente clasificación y definiciones de biomarcadores de EICH (Paczesny *et al*, 2015; Wolff *et al*, 2018):



- **Biomarcadores para el diagnóstico:** se usan para identificar a los pacientes con EICH al inicio de la enfermedad y ayudar a diferenciar sus síntomas de otras complicaciones.
- **Biomarcadores para el pronóstico:** se usan para identificar a los pacientes con diferentes grados de riesgo de aparición, progresión o gravedad de la EICH antes del inicio o al diagnóstico de la EICH.
- **Biomarcadores predictivos:** se usan para clasificar a los pacientes en función de su probabilidad de responder a distintos tipos de tratamiento de la EICH.
- **Biomarcadores de respuesta al tratamiento:** se usan para monitorizar la respuesta al tratamiento y guiar las decisiones respecto al cambio de tratamiento.

Para ser útil, un biomarcador debe poseer las siguientes características: (1) facilidad de su determinación, (2) técnica reproducible y ampliamente disponible, (3) bajo coste relativo, (4) adecuada sensibilidad y especificidad, (5) valor predictivo, (6) correlación con la severidad y (7) correlación con la respuesta al tratamiento (Chen & Cutler, 2019).

Los primeros biomarcadores investigados se escogieron por su presunto rol en la patofisiología de la EICH, así en última instancia estos podrían servir como dianas terapéuticas. Estos estudios fueron en su mayoría unicéntricos, con pocos pacientes y no fueron validados en cohortes más amplias (Chen & Cutler, 2019).

Los biomarcadores se pueden agrupar en 5 categorías: (1) marcadores de inflamación sistémica, (2) moléculas de superficie de linfocitos, (3) productos liberados por el daño a los órganos diana, (4) proteómica y (5) celulares.

#### 1. Marcadores de inflamación sistémica

Las citoquinas, dado su rol en la inflamación, fueron las primeras en ser estudiadas, especialmente la IL-2 y el TNF $\alpha$ . Los niveles plasmáticos de estas citoquinas y de sus receptores solubles (sIL-2R y TNFRs) aumentan en la EICH aguda y existe una correlación con la severidad. Sin embargo, también aumentan en otras complicaciones del trasplante como infecciones, sepsis, enfermedad veno-oclusiva hepática y neumonitis intersticial. Además, también se encuentran elevadas en pacientes críticos sin EICH (Foley *et al*, 1998; Or *et al*, 1996; Chen & Cutler, 2019).

Otros estudios se centraron en los reactantes de fase aguda (IL-1, IL-6,

proteína C reactiva, albúmina) y múltiples otras citoquinas, IL-8, IL-10, IL-18, IL-7, IL-15, pero han resultado ser marcadores sistémicos de inflamación y no son específicos de EICH aguda (Chen & Cutler, 2019).

En cambio, los niveles elevados del factor suppression of tumorigenicity 2 (ST2), el receptor de la IL-33, han resultado ser el biomarcador más validado de EICH aguda y de mortalidad sin recaída (MSR), medido solo o en combinación con otros marcadores. Niveles elevados de ST2 se han correlacionado con un aumento del riesgo de MSR y de resistencia al tratamiento de la EICH aguda (Lugt *et al*, 2013). En un estudio, el aumento de la mortalidad fue independiente del grado de EICH y resultó un mejor predictor del riesgo de muerte que otros factores de riesgo bien conocidos (edad, acondicionamiento, fuente de progenitores, compatibilidad HLA) (Lugt *et al*, 2013).

### 2. Moléculas de superficie linfocitaria

La circulación de los linfocitos está controlada por multitud de moléculas de superficie específicas. La EICH aguda funciona como una respuesta inmunológica adaptativa, por lo que requiere de los mismos mecanismos de tráfico leucocitario. Un estudio mostró que la integrina  $\alpha 4\beta 7$ , una molécula de superficie que guía a los linfocitos al tejido linfoide intestinal, se asociaba con el desarrollo de EICH en este órgano (Chen *et al*, 2009). Un estudio posterior evidenció que los linfocitos T CD8<sup>+</sup> de memoria de los pacientes con EICH aguda intestinal tienen niveles de expresión de  $\alpha 4\beta 7$  más elevados (Chen *et al*, 2013).

El CD30, miembro de la familia de los tumor necrosis factor receptor (TNFR), se expresa en la superficie de algunas células T activadas y su expresión parece ser mayor en pacientes con EICH aguda (Chen *et al*, 2012).

Las quimoquinas son pequeñas moléculas que se unen a receptores asociados a proteína G que también participan en el tráfico leucocitario. Piper *et al*. encontraron que los niveles plasmáticos de la quimoquina CXCL10 en los pacientes con EICH aguda cutánea era el doble que en el grupo control (Piper *et al*, 2007). Así mismo, se ha visto aumento de CCL8 en una pequeña serie de pacientes con EICH (Hori *et al*, 2008).

### 3. Biomarcadores no citoquinas

Aparte de las moléculas inflamatorias, se han estudiado otras liberadas durante el daño a los tejidos diana como posibles biomarcadores. La granzima A y B son

productos de las células T citotóxicas y NK. Los niveles plasmáticos se elevan en la EICH aguda y se correlacionan con la severidad. Sin embargo, también se asocian a infección por CMV (Kircher *et al*, 2009). La granulicina es otra proteína citolítica contenida en los gránulos de los linfocitos NK y T citotóxicos. Nagasawa *et al*. encontraron una correlación significativa entre el nivel de granulicina y la presencia de EICH, y el valor máximo de granulicina fue significativamente mayor en los grados II-IV comparado con los pacientes sin EICH o grado I. Además, los niveles de granulicina disminuyeron al intensificar la terapia inmunosupresora (Nagasawa *et al*, 2006).

La citoqueratina 18 es un filamento intermedio presente en las células epiteliales que en la apoptosis es clivado y secretado. Luft *et al*. mostraron que los niveles séricos se correlacionan con la severidad de la EICH aguda hepática e intestinal (Luft *et al*, 2007). Más recientemente, el grupo de Paczesny, ha identificado el regenerating islet-derived 3-alpha (REG3α) como posible biomarcador de EICH intestinal y hepática (Ferrara *et al*, 2011). El hepatocyte growth factor (HGF) es una molécula cuyas funciones incluye la reparación de tejidos después de una injuria, también se ha visto aumentado en casos de EICH hepática (Harris *et al*, 2012).

De forma similar, syndecan-1 es un proteoglicano presente en la superficie de las células epiteliales de la piel, hígado e intestino, y los niveles plasmáticos están aumentados en la EICH aguda y se correlacionan con la severidad (Seidel *et al*, 2003).

#### 4. Estudios de proteómica

Dado la complejidad del sistema inmune y de las vías implicadas en el contexto de la EICH, identificar un único biomarcador puede resultar imposible. Algunos grupos han aplicado técnicas proteómicas de gran escala para identificar patrones de expresión RNA o traducción de proteínas. Investigadores de la Universidad de Michigan, mediante este enfoque, identificaron un panel de 4 biomarcadores (IL-2Rα, TNFR1, HGF y IL-8). Cuando aplicaron este panel a un grupo de validación de 142 pacientes, fueron capaces de diagnosticar con exactitud la EICH aguda, además de predecir la supervivencia independiente del grado de severidad de la EICH (Paczesny *et al*, 2009).

Posteriormente, se evaluó un panel de 3 biomarcadores (IL-2Rα, TNFR1 y elafina) en los días +7 y +14 en 2 cohortes de pacientes (n = 342 y n = 171). El análisis mostró una especificidad del 75% y sensibilidad de 57% para el desarrollo de EICH aguda (Paczesny *et al*, 2011).

Más recientemente, Levine *et al.* desarrollaron un algoritmo usando la concentración de 3 biomarcadores plasmáticos (TFNR-1, ST2, y REG3α) para predecir, en el momento de aparición de síntomas de EICH aguda, la probabilidad de MSR a los 6 meses. Este algoritmo basado en una fórmula matemática define 3 categorías (Ann Arbor 1, 2 y 3) con distinto riesgo de MSR (8%, 27%, 46%, a los 6 meses respectivamente) independiente de la gradación clínica. Además, puntajes más altos predijeron el desarrollo de EICH gastrointestinal, que es frecuentemente una causa de mortalidad cuando es refractaria al tratamiento. Este score podría ser una guía para el tratamiento de la EICH aguda aunque aún no ha sido validado en este contexto (Levine *et al.*, 2015).

Otros grupos de investigación han utilizado la espectrometría de masas para identificar candidatos a biomarcadores. Esta técnica no depende de la disponibilidad de anticuerpos existentes, pero es más laboriosa y lenta y no permite identificar proteínas específicas. Kaiser *et al.* consiguieron discriminar entre un grupo de pacientes con y sin EICH utilizando un panel de 31 polipeptidos en la orina con una sensibilidad y especificidad de 83,1% y 75,6% respectivamente (Weissinger *et al.*, 2007).

### 5. Biomarcadores celulares

Los linfocitos Tregs (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) han mostrado valor diagnóstico y predictivo en la EICH aguda. Niveles bajos de estos linfocitos se han asociado al desarrollo de EICH aguda y MSR. Al contrario, una subpoblación de linfocitos T que expresan la molécula de adhesión CD146 (CD4<sup>+</sup>CD146<sup>+</sup>CCR5<sup>+</sup>) se encontró elevada a los 14 días del TPH en pacientes con EICH gastrointestinal (Adom *et al.*, 2020).

Niveles elevados de células invariant natural killer (iNK) en el injerto se asociaron a menor incidencia de EICH. Se cree que estas células suprimen la proliferación de las células T y las secreción de INFγ (Adom *et al.*, 2020).

#### 1.2.3.6.1. Biomarcadores de EICH cutánea

Paczesny *et al.* utilizaron la espectrofotometría en plasma de pacientes con y sin EICH para descubrir la elafina (Paczesny *et al.*, 2010). La elafina o skin-derived antileukoproteinase (SKALP) o trappin-2 es un inhibidor de elastasa producida por las células epiteliales en respuesta a citoquinas proinflamatorias (IL-1 y TNFα). En la piel normal no es detectable, pero se secreta en patologías inflamatorias como la psoriasis

y en las neoplasias en las que tiene una función inmunomoduladora y antiproliferativa (Pfundt *et al*, 1996). En el estudio de Paczesny se observó que los niveles plasmáticos de elafina aumentaban significativamente al inicio de la EICH cutánea y se correlacionaron con el grado máximo de EICH así como con mayor riesgo de mortalidad (Paczesny *et al*, 2010).

La expresión de elafina se ha estudiado también en biospias cutáneas. Brüggen *et al*. encontraron que el grupo con mayor expresión se asoció con peor pronóstico y disminución de la supervivencia global (SG) en pacientes con EICH aguda y mala respuesta a corticoides en la EICH crónica. Este estudio fue el primero en valorar la expresión de elafina en la EICH crónica, encontrando que el subgrupo con EICH esclerótica no expresaba elafina, mientras que los que tenían EICH liquenoide mostraron una expresión de elafina más elevada incluso que en la EICH aguda (Brüggen *et al*, 2015). Además, valoraron la utilidad de la elafina en el diagnóstico diferencial de la EICH cutánea con las toxicodermias, no encontrando diferencias significativas en la expresión de elafina entre ambos grupos (Brüggen *et al*, 2015).

Los diversos biomarcadores reconocidos y validados para la EICH aguda y crónica durante la última década han sido recientemente revisados en detalle por Adom *et al*. (Adom *et al*, 2020). En la Tabla 1.15 se resumen los biomarcadores validados hasta el momento para EICH aguda.

Tabla 1.15. Biomarcadores plasmáticos y celulares de EICH aguda.

| Tipo de biomarcador         | Biomarcador                                                                              | Asociación con EICH       |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Plasmático                  | Panel de 4 biomarcadores:<br><br>IL-2R $\alpha$<br><br>HGF<br><br>IL-8<br><br>TNFR1      | Aumentado                 |
|                             | Panel de 3 biomarcadores (score Ann Arbor)<br><br>TFNR-1<br><br>ST2<br><br>REG3 $\alpha$ | Aumento del riesgo de MSR |
|                             | IL-6                                                                                     | Aumentado                 |
|                             | ST2                                                                                      | Aumentado                 |
|                             | TIM3                                                                                     | Aumentado                 |
|                             | Ratio AREG/EGF                                                                           | Aumentado                 |
| Específico piel             | Elafin                                                                                   | Aumentado                 |
| Específico hígado           | REG3 $\alpha$                                                                            | Aumentado                 |
|                             | HGF                                                                                      | Aumentado                 |
|                             | Queratina 18                                                                             | Aumentado                 |
| Específico gastrointestinal | REG3 $\alpha$                                                                            | Aumentado                 |
|                             | TIM3                                                                                     | Aumentado                 |
| Celular                     | Tregs                                                                                    | Disminuido                |
|                             | Células T CD146 <sup>+</sup>                                                             | Aumentado                 |
|                             | CD30                                                                                     | Aumentado                 |
|                             | iNKT                                                                                     | Disminuido                |

IL-2R $\alpha$ : IL-2-receptor-  $\alpha$ ; HGF: hepatocyte growth factor; TNFR1: tumor necrosis factor receptor-1; ST2: suppression of tumorigenicity 2; TIM3: T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein; ratio amphiregulin/epidermal growth factor; REG3 $\alpha$ : regenerating islet-derived 3- $\alpha$ ; Tregs: células T reguladoras; iNKT: invariant natural killer T cells; MSR: mortalidad sin recaída. Adaptado de Adom *et al.* (Adom *et al.*, 2020).

Otra área de estudio de biomarcadores es la expresión de ciertos microRNA (miRNA) que se encuentran aumentados en el plasma de pacientes con EICH aguda. Estos miRNA pueden ser detectados antes de la aparición de la enfermedad. Algunos se asocian con mayor gravedad y mala SG (miR-423, miR-199<sup>a</sup>-3p, mi-R93\* y miR-

377) (Xiao *et al*, 2013), mientras que otros (miR-20<sup>a</sup>, miR-30b-5p) se asociaron con menor tasa de MSR y SG (Crossland *et al*, 2017).

Hasta el momento, ningún biomarcador o combinación de ellos ha mostrado suficiente evidencia para su aplicación en la práctica clínica habitual. Disponer de biomarcadores permitiría un diagnóstico más precoz y certero, evitando técnicas invasivas como las biopsias y su difícil interpretación. Además, permitiría administrar tratamientos “preventivos” antes de la aparición de síntomas y estratificar la intensidad del tratamiento de acuerdo al riesgo de desarrollar EICH grave o refractaria evitando la iatrogenia del uso de múltiples inmunosupresores. Así mismo, la determinación seriada de estos biomarcadores sería útil para valorar la respuesta al tratamiento y guiar la retirada de la inmunosupresión.

#### 1.2.3.7. **Medidas preventivas**

La profilaxis de la EICH aguda se centra en la disminución de la respuesta inmunológica. Esto se consigue bien mediante la inmunosupresión del receptor utilizando fármacos o radiación, y/o mediante la depleción *ex vivo* o *in vivo* de células T del injerto. Eliminar por completo la EICH puede reducir la morbi-mortalidad temprana tras el TPH, pero a expensas de un mayor riesgo de recaída. Encontrar un equilibrio entre prevención de EICH sin comprometer el efecto ICT es un gran reto. Actualmente no existe un régimen estándar en la prevención de EICH ya que la profilaxis depende del tipo de trasplante (sobre todo el grado de similitud HLA/emparentado y fuente de progenitores) y como demostró un estudio del EBMT, además existe variabilidad entre los diferentes centros de trasplante (Ram & Storb, 2013).

El primer agente que mostró aumento de supervivencia en modelos caninos de trasplante fue el metotrexato. Desde entonces se utilizó en monoterapia como profilaxis de EICH en humanos y ha mostrado superioridad frente a otros agentes (Ram & Storb, 2013). Sin embargo, la incidencia y severidad continuaban siendo elevadas. Tras añadir ciclosporina a la profilaxis con metotrexato la incidencia de EICH disminuyó (Ram & Storb, 2013). Actualmente en la mayoría de los centros se utiliza la combinación de un curso corto de metotrexato en los días +1, +3 y +6 y ciclosporina durante al menos los primeros 100 días pos-TPH (Ram & Storb, 2013) como régimen de AMA. En la Tabla 1.16 se describen los fármacos más comúnmente utilizados en

los regímenes de profilaxis de EICH, así como los mecanismos de acción y principales efectos secundarios (Ram & Storb, 2013).

Tabla 1.16. Fármacos utilizados en los regímenes de profilaxis de EICH, mecanismos de acción y efectos secundarios.

| Fármaco                      | Régimen                                                                                                                                       | Modo de acción                                                                                                            | Principales efectos adversos                                                                     |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Corticoides</b>           | Metilprednisolona o prednisona 1-2 mg/kg/día                                                                                                  | Efecto linfocitotóxico y regulación a la baja de citoquinas proinflamatorias                                              | Hiperglucemia, hipertensión, cataratas, osteoporosis, infecciones                                |
| <b>Metotrexato</b>           | Día +1: 15 mg/m <sup>2</sup> IV, +3: y +6 :10 mg/m <sup>2</sup> IV. En algunos centros +11: 10 mg/m <sup>2</sup> IV                           | Inhibe el crecimiento y división celular. Inhibición de las CPA. Efecto citotóxico                                        | Retraso de la recuperación hematológica, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, mucositis              |
| <b>Ciclosporina</b>          | Dosis de carga IV de 3-5 mg/kg/día del día -3 a -1. Ajuste de dosis según concentración plasmática. Cambio a VO cuando haya tolerancia oral   | Bloquea la transducción de señal dependiente de calcio del receptor de células T. Inhibe la producción de IL-2            | Insuficiencia renal, elevación de bilirrubina, hipertensión, hiperglicemia, hirsutismo, cefaleas |
| <b>Tacrólimus</b>            | Dosis de carga IV de 0,02 mg/kg/día del día -3 al -1. Ajuste de dosis según concentración plasmática. Cambio a VO cuando haya tolerancia oral | Bloquea la transducción de señal dependiente de calcio del receptor de células T. Inhibe la producción de IL-2            | Insuficiencia renal, elevación de bilirrubina, hipertensión, hiperglicemia, neurotoxicidad       |
| <b>Sirólimus</b>             | Dosis de carga VO de 12 mg en el día -3. Ajuste de dosis según concentración plasmática                                                       | Inhibición específica de la progresión de la fase G1 a la fase S. Inhibición de señales coestimuladoras mediadas por CD28 | Elevación de enzimas hepáticas, diarrea, hipertrigliceridemia, trombocitopenia                   |
| <b>Micofenolato mofetilo</b> | Inicio después de la infusión celular 2-3 g/día                                                                                               | Inhibición directa de la proliferación de linfocitos mediante un mecanismo de depleción intracelular                      | Trombocitopenia, leucopenia, aumento de infección virales, molestias gastrointestinales          |



| Fármaco                   | Régimen                                   | Modo de acción                        | Principales efectos adversos                                              |
|---------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
|                           |                                           | de purina                             |                                                                           |
| <b>Anti-timoglobulina</b> | Varias dosis durante el acondicionamiento | Depleción <i>in vivo</i> de células T | Reacciones de infusión, alta incidencia de infecciones sobre todo virales |
| <b>Alemtuzumab</b>        | Varias dosis durante el acondicionamiento | Depleción <i>in vivo</i> de células T | Reacciones de infusión, alta incidencia de infecciones sobre todo virales |

#### 1.2.3.8. Tratamiento de la EICH aguda

La elección del tratamiento inicial para los pacientes con EICH aguda depende de los órganos involucrados, la gravedad de los síntomas, el régimen de profilaxis utilizado y, hasta cierto punto, la importancia del efecto ICT para el control de la enfermedad neoplásica subyacente. La mayoría de las opciones de tratamiento se basan en la inmunosupresión de las células T del donante. Esquemáticamente, el tratamiento inicial según el grado de EICH es el siguiente:

- **Grado I:** el manejo de la EICH cutánea leve se centra en el uso de tratamientos tópicos (corticoides, inhibidores de la calcineurina (ICN)) y la optimización de las medidas profilácticas que se ajustan según los niveles plasmáticos de los inmunosupresores.
- **Grado II o superior:** además de las medidas descritas para la EICH de grado I, el tratamiento estándar de la EICH más grave son los corticosteroides sistémicos. Su función se atribuye a su acción linfólítica y el régimen más utilizado inicial es la metilprednisolona 2 mg/kg/día. No hay evidencia de que dosis más altas (10 mg/kg/día) tengan beneficio (Lint *et al*, 1998). Los corticoides se mantienen durante varias semanas en los pacientes que responden y luego se reducen gradualmente durante un período de varios meses. Se estima que entre el 50-80% de los pacientes responde a corticosteroides (Bacigalupo, 2007). La dinámica de respuesta al tratamiento es distinta en cada órgano afectado y varía entre pacientes. Las manifestaciones cutáneas pueden responder rápido, pero la respuesta hepática e intestinal suele ser más lenta. Para pacientes con EICH con afectación gastrointestinal,

además de corticosteroides sistémicos, puede considerarse el uso de corticoides orales no absorbibles, siempre que se haya descartado una infección gastrointestinal. La mayoría de los pacientes requerirán nutrición suplementaria.

Los pacientes con EICH aguda deben ser evaluados diariamente para valorar la respuesta y aparición de complicaciones relacionadas. Los pacientes que demuestran progresión de la enfermedad en cualquier órgano en el día 3, o que no existe respuesta en el día 5 (o 7 para algunos autores) se consideran refractarios a los corticoesteroides y se debe considerar el tratamiento de segunda línea (Deeg, 2007).

- **EICH aguda refractaria:** Para pacientes con EICH aguda refractaria a los corticosteroides no existe una terapia estandarizada. En la literatura se han descrito numerosas estrategias para tratar a estos pacientes. En su mayoría se dirigen a la inactivación de linfocitos alorreactivos, CPA, citoquinas o sus receptores. En general, los resultados han sido desalentadores, con tasas de respuesta del 10-30% (MacMillan *et al*, 2002b). Además, solo existen unos pocos ensayos controlados por lo que ha sido imposible identificar qué pacientes son susceptibles de responder a determinados tratamientos. La consecuencia de esto ha sido el uso indiscriminado de cualquier agente disponible o a preferencia del médico (Deeg, 2007). Se han propuesto diversas opciones terapéuticas que se describen a continuación y se resumen en la Tabla 1.17 y sus vías de actuación en la Figura 1.5. No obstante, el pronóstico de los pacientes que desarrollan EICH aguda y que no responden al tratamiento de primera línea es malo con una supervivencia del 30% en los pacientes que reciben tratamientos de segunda línea (Bacigalupo, 2007). Inicialmente los pacientes suelen presentar algún grado de respuesta a estos tratamientos y la gravedad de la EICH disminuye, pero suelen desarrollar infecciones que son la principal causa de mortalidad. La recomendación es que siempre que sea posible, se incluya a los pacientes en un ensayo clínico (Deeg, 2007).

Tabla 1.17. Tratamiento de la EICH aguda refractaria a corticoides según órganos afectados.

| Manifestación predominante | Segunda línea                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Piel</b>                | ATG, denileukin diftitox, anticuerpos monoclonales (anti-CD25, anti-CD3, anti-CD52), fototerapia (PUVA, ECP), inmunosupresores (MFM, ICN, pentostatina, sirólimus)                                |
| <b>Hígado</b>              | ATG, denileukin diftitox, anticuerpos monoclonales, inmunosupresores (sirólimus, pentostatina, ICN), ECP                                                                                          |
| <b>Gastrointestinal</b>    | Corticoides no absorbibles (beclometasona, budesonida), ATG, anti-TNF $\alpha$ (infliximab, etanercept), inmunosupresores (sirólimus, pentostatina, ICN), células madre mesenquimales, octreótido |

ATG: anti-timoglobulina; PUVA: fototerapia con psoralenos; ECP: fotoféresis extracorpórea; MFM: micofenolato mofetilo; ICN: inhibidores de la calcineurina. Adaptado de (Deeg, 2007).

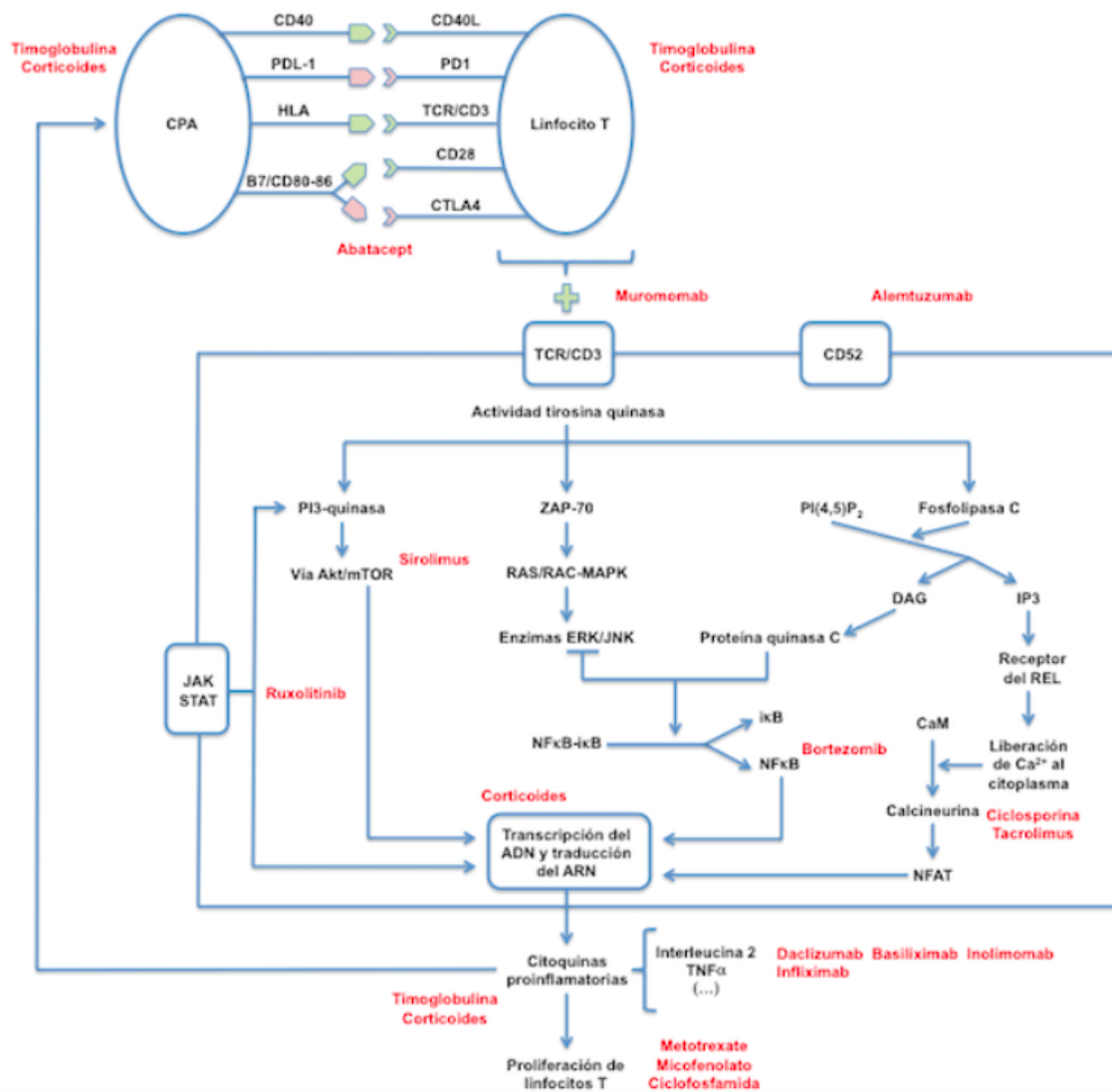


Figura 1.5. Vías de actuación de los principales inmunosupresores.

ATG: anti-timoglobulina; CaM: Calcium-modulated protein; CTLA4: Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4; DAG: Diacilglicerol; ERK: Extracellular signal-regulated kinases; JAK : Janus kinase; JNK: c-Jun N-terminal kinase; IP3: Trifosfoinositol; mTOR: Mammalian Target of Rapamycin; MAPK: Mitogen-activated protein kinases; NFAT: Nuclear factor of activated T-cells; NFκB: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; PDL-1: Programmed death-ligand 1; PD1: Programmed cell death protein 1; PI3: Fosfoinositol 3; PI(4,5)P2: Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato; STAT: Signal transducers and activators of transcription; TCR: T cell receptor; TNFα: Factor de necrosis tumoral alfa (Chao, 2016).

Las principales estrategias de tratamiento de segunda línea se describen a continuación:

- **Anti-timoglobulina (ATG):** existe experiencia considerable con ATG que se utiliza hace más de 3 décadas. Tiene una respuesta del 20-50% en los pacientes con EICH refractaria (60-75% en los casos cutáneos) (MacMillan

*et al*, 2002<sup>a</sup>; Deeg, 2007), sin embargo no ha demostrado aumentar la SG ya que predispone a infecciones y síndromes linfoproliferativos pos-TPH (Curtis *et al*, 1999). Este anticuerpo tiene un amplio efecto anti células T, y además induce los linfocitos T reguladores (Tregs) (Lopez *et al*, 2006). La administración precoz de ATG parece estar asociada a mejor supervivencia (MacMillan *et al*, 2002b). Los efectos secundarios son reacciones febriles, hipotensión, trombocitopenia, y en casos raros anafilaxia. Se ha visto asociación entre ATG y la aparición de desórdenes linfoproliferativos pos-TPH (generalmente por VEB) (Deeg, 2007). La toxicidad aguda se controla mediante premedicación con corticoides y antihistamínicos (Deeg, 2007).

○ **Otros anticuerpos monoclonales:**

- **Anti-IL2** (Daclizumab, Basiliximab) han demostrado eficacia en casos resistentes a corticoides, sin embargo las infecciones son muy frecuentes (Antin *et al*, 2004).
- **Anti-TNF $\alpha$**  (infliximab y etanercept) se han utilizado en primera y segunda línea. Se ha visto que en algunos pacientes producen una mejoría rápida de los síntomas sobre todo los gastrointestinales (Jacobsohn *et al*, 2003; Couriel *et al*, 2009).
- **Alentuzumab** un anti-CD52, mostró una tasa de respuesta completa de 35% en una serie de 20 pacientes con EICH intestinal grado III-IV. El principal efecto adverso fueron las infecciones por CMV, bacterias y aspergilosis invasiva (Schnitzler *et al*, 2009).
- **Begelomab** un anticuerpo monoclonal IgG dirigido contra el antígeno CD26 expresado en linfocitos T activados y con potente función co-estimuladora, así como en el tráfico de las células T. En dos ensayos clínicos pilotos prospectivos incluyendo 28 pacientes con EICH aguda refractaria a corticoides mostró una respuesta en el día 28 del 75% (y 61% en otros 41 pacientes en uso compasivo) con respuestas completas del 11% y 12% respectivamente. Los efectos adversos más frecuentes fueron diarrea, reactivación de CMV y otras infecciones, pero ninguno se atribuyó al fármaco (Bacigalupo *et al*, 2020).

- **Inhibidores mTOR: Sirólimus (Rapamicina)** tiene propiedades inmunosupresoras, antitumorales y antifúngicas. Se une a FK-binding protein 12 (FKBP12) y forma un complejo con el mTOR (mamalian target of rapamicin) inhibiendo varias vías moleculares. Recientemente se ha visto que también induce la expansión de Tregs (Wolf *et al*, 2012). La evidencia sobre su uso en la EICH aguda refractaria es escasa. En un estudio realizado en 21 pacientes el 24% tuvo remisión completa. Por otro lado, se ha estudiado su uso como primera línea de tratamiento libre de corticoides. Una serie retrospectiva de 32 pacientes con EICH intestinal y cutánea grado I-III mostró una tasa de respuesta similar a la alcanzada con corticoides (50%) (Pidala *et al*, 2011). Sin embargo, el número de pacientes con grados severos de EICH aguda incluidos fue escaso. Las principales complicaciones son la microangiopatía trombótica y la hiperlipemia.
- **Antimetabolitos:**
  - **Micofenolato mofetilo** se ha utilizado con cierto éxito. Es bien tolerado en general y es útil como ahorrador de corticoides. Su uso está más extendido en la EICH crónica (Antin *et al*, 2004).
  - **Pentostatina** un análogo de purina que inhibe la función y expansión de linfocitos T, obtuvo una tasa de respuesta de 63%, pero solo el 26% de los pacientes estaban vivos en el seguimiento a un año (Bolaños-Meade *et al*, 2005).
- **Inhibidores JAK: Ruxolitinib** es un inhibidor selectivo de la Janus kinasa (JAK) 1 y 2 aprobado para el tratamiento de la mielofibrosis. Esta vía está implicada en la inflamación y daño tisular producido por la EICH. En los últimos años se ha realizado un estudio multicéntrico en el que se incluyeron 95 pacientes, de los cuales 54 tenían EICH aguda y 41 EICH crónica, ambas severas y refractarias. En el grupo de agudos, 82% respondieron al tratamiento, con 46% de respuestas completas. En los crónicos hubo 85% de respuestas. Las recurrencias fueron del 7% y 6% respectivamente y la supervivencia a 6 meses 79% y 97%. Los efectos secundarios observados fueron citopenias y reactivaciones de CMV (Zeiser *et al*, 2015).

- **Fototerapia:**

- **Fotoféresis extracorpórea (ECP):** se usa frecuentemente en el tratamiento de la EICH crónica, sin embargo, en los últimos años se ha extendido su uso a casos agudos (Chen *et al*, 2015; Bredeson *et al*, 2014). Un estudio mostró un 82% de respuestas completas (en combinación con corticoesteroides). Los resultados son lentos, y requiere al menos 12 semanas de tratamiento una o dos veces a la semana (Greinix *et al*, 2006).
- **Radiación ultravioleta B (UVB):** depleciona las células dendríticas epidérmicas. Un estudio en que se administró radiación UVB a 17 pacientes pos-TPH mostró que disminuye las células dendríticas epidérmicas y dérmicas. Los 9 pacientes con depleción total no desarrollaron EICH aguda o esta fue grado I. Estos pacientes además tenían un número mayor de linfocitos Tregs circulantes. La irradiación UVB pos-trasplante es una estrategia a explorar como profilaxis para EICH aguda (Kreutz *et al*, 2012).

- **Terapia celular:**

- **Células madre mesenquimales:** han cobrado gran interés en los últimos años por su capacidad inmunomoduladora y de reparación de tejidos. Se realizó un estudio en 40 pacientes con EICH severa (grados III-IV) con 48% de respuestas completas y 18% no respondedores (Amorin *et al*, 2014). Otros estudios han mostrado resultados contradictorios (Sudres *et al*, 2006).
- **Linfocitos T reguladores (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>):** mantienen el equilibrio entre auto y aloinmunidad y son mediadores clave en la tolerancia inmunológica (Whangbo *et al*, 2020). En modelos animales, la infusión de linfocitos Tregs previno la aparición de EICH aguda sin alterar el efecto ICT. Un estudio mostró que la mortalidad relacionada con la recaída y las infecciones no aumentaron en los pacientes que recibían injertos con números elevados de linfocitos Tregs (Ianni *et al*, 2011). En un ensayo clínico reciente, 28 pacientes sometidos a TPH haploidéntico recibieron linfocitos Tregs previo al TPH de células CD34<sup>+</sup> purificadas, sin profilaxis anti-EICH. Solo 2 pacientes desarrollaron EICH aguda grado II-IV y a los 11,2 meses de seguimiento ninguno presentó EICH crónica. A pesar del pequeño tamaño muestral y el periodo de

seguimiento corto, la infusión de linfocitos Tregs parece ser una estrategia factible y segura para prevenir la EICH (Ianni *et al*, 2011). El compartimento de células Tregs también puede ser modificado farmacológicamente.

- En modelos murinos de TPH se ha visto que el sirólimus favorece la producción de linfocitos Tregs por el timo y la difusión de estos a los órganos (Song *et al*, 2016; Battaglia *et al*, 2005; Wolf *et al*, 2012). La ATG también es un potente inductor de linfocitos Tregs capaz de convertir linfocitos CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>-</sup> en CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (fenotipo regulador) (Lopez *et al*, 2006; Ruzek *et al*, 2008).

### **1.2.4. Enfermedad injerto contra huésped crónica**

#### **1.2.4.1. Fisiopatología de la EICH crónica**

El estudio de la EICH crónica está limitado por la ausencia de modelos que se correlacionen con la EICH crónica humana y por la propia heterogeneidad de la enfermedad. Además, el inicio insidioso de los síntomas y la ausencia de biomarcadores que determinen el inicio de la EICH crónica dificulta el estudio de los mecanismos fisiopatológicos iniciales. Se han desarrollado modelos para manifestaciones concretas de EICH crónica, como esclerosis cutánea (Zhou *et al*, 2007), afectación pulmonar (Chen *et al*, 1998), autoanticuerpos (Zhang *et al*, 2006), pero ningún modelo abarca completamente el amplio espectro de manifestaciones de la EICH crónica.

Uno de los grandes avances en el estudio de la EICH crónica fue la conferencia de consenso de Bethesda de 2005 (Filipovich *et al*, 2005), posteriormente revisada en 2014 (Pavletic *et al*, 2015), que estableció una terminología común y guías para la realización de ensayos clínicos y estudios sobre biomarcadores. A partir de la primera conferencia, se pasó a definir a la EICH crónica como un diagnóstico clínico más que temporal y se desarrolló un nuevo sistema de gradación basado en el número de órganos afectados, severidad y repercusión funcional (Pavletic *et al*, 2015), lo cual ha permitido homogeneizar los estudios sobre EICH crónica.

La patogenia de la EICH crónica se basa en fenómenos de aloreactividad y autoinmunidad. La pérdida de tolerancia inmune conduce a la activación y expansión



de linfocitos T contra antígenos propios. Los pacientes con EICH crónica presentan una alta incidencia de autoanticuerpos (ANA, DNAds, anti-músculo liso), aunque éstos no se relacionan con manifestaciones órgano-específicas ni con la gravedad de la EICH crónica (Tyndall & Dazzi, 2008; Kuzmina *et al*, 2015).

Se ha visto que la composición del injerto es un factor importante en su desarrollo. De esta forma, la incidencia de EICH crónica es menor en los TSCU y médula ósea comparado con la sangre periférica. Las posibles explicaciones han sido la mayor respuesta inmune innata en la sangre periférica (Buzzeo *et al*, 2007; Talarin *et al*, 2006) y la diferente composición de células dendríticas que hace que la presentación de antígenos sea ineficaz en el TSCU (Canaday *et al*, 2006). En cuanto a las potenciales diferencias entre médula ósea y sangre periférica, se ha visto que la médula ósea posee más células B naive y células dendríticas plasmocitoides (Shier *et al*, 2004).

#### 1.2.4.2. **Epidemiología y factores de riesgo**

Generalmente, la EICH crónica aparece tras los primeros 3 meses del TPH y la mayoría de los casos se diagnostican en el primer año. Sin embargo, entre el 5% y 10% aparecen más tardíamente. La EICH crónica puede surgir como una prolongación de la EICH aguda (*EICH crónica progresiva*), aparecer tras un intervalo libre de enfermedad (*EICH crónica quiescente*) (Lee *et al*, 2003) o sin precedente de enfermedad aguda (*EICH crónica de novo*). Las tasas de incidencia son elevadas (30-70%) y varían según los factores de riesgo y los criterios diagnósticos utilizados. Las estrategias de profilaxis que han mejorado las tasas de EICH aguda no han disminuido la incidencia de EICH crónica.

Los factores de riesgo más reconocidos para el desarrollo de una EICH crónica son los siguientes:

- Mayor grado de disparidad HLA
- Edad avanzada del donante y/o receptor
- Disparidad de género del donante y del receptor (donante femenino a receptor masculino)
- Aloinmunización del donante (antecedentes de embarazo, transfusiones)
- Origen de las células progenitoras: sangre periférica > médula ósea > sangre

del cordón umbilical

- EICH aguda previa
- Administración de transfusiones no desleucocitadas ni irradiadas
- Esplenectomía previa
- Seropositividad del CMV (donante y/o receptor)
- Seropositividad del VEB (donante)

### 1.2.4.3. **Manifestaciones clínicas**

Las manifestaciones clínicas de la EICH crónica dependen fundamentalmente de la afectación de los órganos diana: piel y mucosas, hígado, tracto gastrointestinal, hígado, pulmones y sistema musculoesquelético. Los síntomas de presentación son, en cierto modo, similares a los que se encuentran en otros síndromes autoinmunes y no hay una presentación uniforme, sino una afectación variable de los órganos diana.

- **Manifestaciones mucocutáneas:** Dado que esta tesis está precisamente enfocada a la caracterización clínica, histológica y biológica de la EICH, dedicaremos un apartado específico y en detalle para la descripción de las “Manifestaciones mucocutáneas de la EICH crónica” más adelante (apartado 1.2.6).
- **Hígado:** aproximadamente la mitad de los pacientes con EICH crónica tienen algún grado de afectación hepática. A menudo, se manifiesta con alteraciones en las PFH, con elevaciones en la fosfatasa alcalina sérica, alanina aminotransferasa (ALT) o AST, y bilirrubina.  
No hay signos que sean diagnósticos o distintivos. Solo una biopsia hepática sirve para confirmar la afectación cuando se sospecha una EICH hepática aislada. La biopsia muestra de forma variable hepatitis lobular, hepatitis crónica persistente, hepatitis crónica activa y reducción o ausencia de pequeños conductos biliares con colestasis. En la mayoría de los pacientes, se cree que la fisiopatología se parece a la cirrosis biliar primaria, incluida la necrosis de las células biliares y el engrosamiento de la membrana basal. Deben excluirse las infecciones y la toxicidad por medicamentos.
- **Tracto gastrointestinal:** el tracto gastrointestinal está involucrado en la mayoría de los pacientes con EICH crónica.

- Esófago: la afectación del esófago suele acompañarse de disfagia, úlceras dolorosas y pseudomembrana esofágica. La presencia de estenosis en el tercio superior a medio del esófago es diagnóstica de EICH crónica.
- Intestino delgado y colon: los síntomas y signos que habitualmente se asocian a la afectación intestinal incluyen anorexia, náuseas, vómitos, diarrea crónica, malabsorción, pérdida de peso y fallo de medro en niños. Estos síntomas pueden verse en la EICH aguda y en el subtipo de superposición. La EICH crónica también puede provocar una insuficiencia pancreática exocrina.
- Los hallazgos endoscópicos son variables y van desde eritema focal leve hasta eritema grave, edema, exudados, erosiones y ulceración. La biopsia puede mostrar apoptosis con abscesos en las criptas, necrosis de la cripta individual y denudación de zonas de la mucosa.
- **Pulmón:** la afectación pulmonar está presente en aproximadamente la mitad de los pacientes con EICH crónica y puede manifestarse como cambios obstructivos y/o restrictivos. Si bien un diagnóstico clínico de bronquiolitis obliterante sugiere EICH crónica, la evidencia histológica de bronquiolitis obliterante es diagnóstica.

La bronquiolitis obliterante tiene típicamente una evolución temporal de los síntomas y signos. Inicialmente, los pacientes son asintomáticos y las alteraciones se observan solo en las pruebas de función pulmonar. Los síntomas tempranos son generalmente disnea leve en el ejercicio o tos seca no productiva. Los síntomas pueden progresar a disnea de esfuerzo. La afectación pulmonar puede progresar a una dependencia de oxígeno, inmovilidad y muerte relacionadas con las infecciones pulmonares.

El diagnóstico clínico de bronquiolitis obliterante se realiza cuando se cumplen todos los criterios siguientes:

- Volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1) /capacidad vital forzada (FVC) relación  $<0.7$  y FEV1  $<75\%$  de lo previsto.
- Evidencia de atrapamiento de aire o engrosamiento de la vía aérea pequeña o bronquiectasias en tomografía computarizada de tórax de alta resolución, volumen residual  $> 120\%$  o confirmación histológica de bronquiolitis constrictiva.

- Ausencia de infección en el tracto respiratorio.
- Histológicamente, los bronquiolos se destruyen con la obliteración fibrosa de la luz. El tejido de granulación frecuentemente se extiende hacia los conductos alveolares.
- **Aparato locomotor:** las complicaciones musculoesqueléticas se observan en hasta el 50% de los pacientes con EICH crónica, que a menudo se presentan de varios meses a años después de un alo-TPH.

Los signos que son habituales, pero no específicos, incluyen edema, calambres musculares, artralgia y artritis. Las dos complicaciones musculoesqueléticas más notables son la fascitis y la miositis, que se asemejan a la fascitis eosinofílica autoinmune y la polimiositis idiopática, respectivamente. No obstante, estas complicaciones se observan en menos del 5% de los pacientes sometidos a alo-TPH.

Los hallazgos clínicos e histológicos dependen del tipo de trastorno:

- **Fascitis:** se manifiesta clínicamente como limitaciones en la movilidad articular y cambios en la piel. Normalmente hay una evolución temporal de los hallazgos clínicos. Inicialmente, puede haber un edema marcado de las extremidades. Con la progresión de la enfermedad, la hinchazón se resuelve y se reemplaza por una induración simétrica con un fruncimiento de la piel que le confiere una textura de piel de naranja (peau d'orange). También se observan contracturas y rigidez articular, lo que limita el movimiento articular, comúnmente en muñecas y/o dedos. Cuando se realiza una biopsia, la histología demuestra infiltración linfocítica, edema y fibrosis en la fascia y los tabiques subcutáneos. La infiltración es difusa y, a menudo, se extiende hacia la grasa subcutánea y el espacio pericapilar, pero por lo general respeta al músculo.
- **Miositis:** se manifiesta clínicamente como debilidad muscular, con o sin mialgias. La debilidad es simétrica y afecta a los músculos proximales, los flexores del cuello y/o la cintura y a los músculos de las extremidades. La creatinquinasa sérica suele ser 5 a 50 veces el valor límite de la normalidad, pero puede estar dentro de los límites normales al inicio del proceso de la enfermedad. También son comunes las elevaciones en otras enzimas, como lactato deshidrogenasa, aldolasa y aminotransferasas. Puede haber autoanticuerpos (ANA, anti-músculo

liso o anti-mitocondriales). La electromiografía generalmente es anormal y demuestra hallazgos compatibles con una miopatía inflamatoria. La biopsia es necesaria para confirmar la miositis. La histopatología demuestra la degeneración, necrosis y regeneración de las fibras musculares e infiltrados de células inflamatorias de origen del donante.

La fascitis o las contracturas articulares pueden establecer el diagnóstico de EICH crónica sin necesidad de pruebas adicionales o evidencia de afectación de otros órganos. La gravedad de la enfermedad musculoesquelética se puede medir utilizando una de las muchas escalas del estado de la articulación/fascia. En un estudio que evaluó varias de estas en una cohorte de observación prospectiva, la escala de la articulación/fascia del NIH fue la más apta para detectar una mejoría clínica con el tratamiento, mientras que la escala de rango de movimiento fotográfico (P-ROM) fue la mejor para evaluar progresión (Inamoto *et al*, 2014).

- **Hematopoyesis y sistema inmune:** aunque no son específicos, los pacientes con EICH crónica comúnmente presentan anomalías de laboratorio que reflejan cambios en los sistemas hematopoyético e inmune. Estos hallazgos incluyen trombocitopenia, eosinofilia, linfopenia, hipo/hipergammaglobulinemia y autoanticuerpos.
- **Otras manifestaciones clínicas:** aunque poco frecuentes, en pacientes con EICH crónica puede verse poliserositis, polimiositis, miastenia gravis, vasculitis de vasos grandes y medianos, enfermedad desmielinizante del SNC, encefalitis autoinmune, neuropatía periférica, anomalías de la conducción cardíaca, miocardiopatía y síndrome nefrótico debido a nefropatía membranosa o, con menor frecuencia, enfermedad de cambios mínimos.

#### 1.2.4.4. **Métodos de diagnóstico**

Los criterios de consenso del NIH determinan los signos y síntomas de EICH crónica que son diagnósticos o distintivos (Greinix *et al*, 2011). En la Tabla 1.18 se recogen dichos criterios para el diagnóstico de EICH crónica.

Las “características diagnósticas” son aquellas que establecen el diagnóstico de la EICH crónica sin necesidad de investigación adicional. En cambio, las “características distintivas” se observan en pacientes con EICH crónica y están ausentes en pacientes con EICH aguda, pero requieren de una exploración adicional para confirmar el diagnóstico. Para hacer un diagnóstico de EICH crónica, debe estar

presente al menos un signo clínico diagnóstico de EICH crónica o una manifestación distintiva confirmada mediante biopsia u otras pruebas relevantes en el mismo u otro órgano. “Otras características o manifestaciones no clasificadas” definen las características raras, controvertidas o inespecíficas de la EICH crónica que no pueden utilizarse para establecer el diagnóstico de esta. Los signos y síntomas que se encuentran en la EICH crónica y aguda se denominan “características comunes”. No se requiere de un límite de tiempo establecido para realizar el diagnóstico de EICH crónica.

En la mayoría de los casos, la EICH crónica es un diagnóstico de exclusión y se deben considerar otras posibles causas que expliquen los signos y síntomas clínicos. El diagnóstico diferencial de la EICH crónica incluye infecciones, reacciones adversas a medicamentos, neoplasias secundarias, entre otros. La mayoría de los diagnósticos alternativos pueden excluirse en la biopsia del tejido afectado.

Tabla 1.18. Características diagnósticas, distintivas y otras manifestaciones de la EICH crónica.

| ÓRGANO       | DIAGNÓSTICAS<br>(Suficientes para establecer el diagnóstico de EICH crónica)                                                                                      | DISTINTIVAS<br>(Ocurren en EICH crónica, pero por sí solas insuficientes para establecer el diagnóstico)                                                                                                                     | OTRAS CARACTERÍSTICAS<br>(Manifestaciones no clasificadas)                                                                                                                           | COMUNES<br>(Ocurren tanto en EICH aguda como crónica)                                                              |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PIEL         | <ul style="list-style-type: none"><li>• Liquen plano</li><li>• Poiquilodermia</li><li>• Morfea</li><li>• Liquen escleroso</li><li>• Esclerosis profunda</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Despigmentación</li><li>• Lesiones papuloescamosas</li></ul>                                                                                                                         | <ul style="list-style-type: none"><li>• Alteración de la sudoración</li><li>• Ictiosis</li><li>• Queratosis pilaris</li><li>• Hipopigmentación</li><li>• Hiperpigmentación</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Eritema</li><li>• Exantema maculopapular</li><li>• Prurito</li></ul>       |
| UÑAS         |                                                                                                                                                                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Distrofia</li><li>• Estrías longitudinales</li><li>• Onicosquiosis</li><li>• Onicolisis</li><li>• Pterigium ungueal</li><li>• Pérdida de las uñas (generalmente simétrico)</li></ul> |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                    |
| PELO Y VELLO |                                                                                                                                                                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Alopecia (cicatricial o no)</li><li>• Pérdida de vello corporal</li></ul>                                                                                                            | <ul style="list-style-type: none"><li>• Cabello fino</li><li>• Opaco</li></ul>                                                                                                       |                                                                                                                    |
| BOCA         | <ul style="list-style-type: none"><li>• Liquen plano</li></ul>                                                                                                    | <ul style="list-style-type: none"><li>• Xerostomía</li><li>• Mucocele</li><li>• Atrofia mucosa</li><li>• Pseudomembranas</li></ul>                                                                                           |                                                                                                                                                                                      | <ul style="list-style-type: none"><li>• Gingivitis</li><li>• Mucositis</li><li>• Eritema</li><li>• Dolor</li></ul> |
| OJOS         |                                                                                                                                                                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Sequedad, dolor, sensación de cuerpo extraño</li><li>• Conjuntivitis cicatricial</li><li>• Queratoconjuntivitis seca</li><li>• Queratopatía punctata</li></ul>                       | <ul style="list-style-type: none"><li>• Fotofobia</li><li>• Hiperpigmentación periorbitaria</li><li>• Blefaritis</li></ul>                                                           |                                                                                                                    |

|                                                               |                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>GENITALES</b><br><i>Femeninos</i><br><br><i>Masculinos</i> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Liquen plano</li><li>• Liquen escleroso</li><li>• Estenosis vaginal</li><li>• Sinequias entre clitoris y labios</li><li>• Fimosis</li><li>• Estenosis uretral</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Erosiones</li><li>• Fisuras</li><li>• Úlceras</li></ul> |                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                     |
| <b>HÍGADO</b>                                                 |                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                              | <ul style="list-style-type: none"><li>• ↑ x 2 bilirrubina o FA</li><li>• ↑ x 2 ALT</li></ul>                                                                        |
| <b>TRACTO GASTROINTESTINAL</b>                                | <ul style="list-style-type: none"><li>• Membrana esofágica</li><li>• Estenosis de los 2/3 superiores del esófago</li></ul>                                                                                      |                                                                                                 | <ul style="list-style-type: none"><li>• Insuficiencia pancreática exocrina</li></ul>                                                                                                                         | <ul style="list-style-type: none"><li>• Anorexia</li><li>• Náuseas y vómitos</li><li>• Diarrea</li><li>• Pérdida de peso</li><li>• Fallo de medro (niños)</li></ul> |
| <b>PULMÓN</b>                                                 | <ul style="list-style-type: none"><li>• BO diagnosticado por biopsia</li></ul>                                                                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Atrapamiento aéreo y bronquiectasias en TC</li></ul>    | <ul style="list-style-type: none"><li>• Neumonía organizada criptogénica</li><li>• Enfermedad pulmonar restrictiva</li></ul>                                                                                 |                                                                                                                                                                     |
| <b>APARATO LOCOMOTOR</b>                                      | <ul style="list-style-type: none"><li>• Fascitis</li><li>• Rigidez o contractura articular por esclerosis o fascitis</li></ul>                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Miositis</li><li>• Polimiositis</li></ul>               | <ul style="list-style-type: none"><li>• Edema</li><li>• Calambres</li><li>• Artralgias o artritis</li></ul>                                                                                                  |                                                                                                                                                                     |
| <b>SISTEMA HEMATOPOYÉTICO</b>                                 |                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                 | <ul style="list-style-type: none"><li>• Trombopenia</li><li>• Eosinofilia</li><li>• Linfopenia</li><li>• Autoanticuerpos, AHAI o PTI</li><li>• ↓ o ↑ gammaglobulinas</li><li>• Fenómeno de Raynaud</li></ul> |                                                                                                                                                                     |



|              |  |  |                                                                                                                                                                                                                                |  |
|--------------|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>OTROS</b> |  |  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Derrame pleural o pericárdico</li><li>• Ascitis</li><li>• Neuropatía periférica</li><li>• Síndrome nefrótico</li><li>• Miastenia gravis</li><li>• Arritmias o miocardiopatía</li></ul> |  |
|--------------|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

BO: bronquiolitis obliterante; TC: tomografía computarizada; FA: fosfatasa alcalina; ALT: alanina aminotransferasa; AHAI: anemia hemolítica autoinmune; PTI: púrpura trombocitopénico idiopático. Adaptado de Jagasia *et al.* (Jagasia *et al.*, 2015).

#### 1.2.4.5. **Gradación global y pronóstico de la EICH crónica**

Se han desarrollado varios sistemas de gradación de la EICH crónica y a pesar de que nunca han sido comparados, todos predicen adecuadamente el pronóstico. De estos, el sistema de puntuación del NIH para la gravedad de la EICH es el único que ha sido validado prospectivamente.

- **Gradación clásica de la EICH crónica:** históricamente, la EICH crónica se ha clasificado como limitada o extensa según la gravedad clínica y los órganos diana afectados:
  - **EICH limitada:** afectación localizada de la piel y/o evidencia de disfunción hepática.
  - **EICH extensa:** afectación generalizada de la piel o afectación localizada de la piel y/o disfunción hepática, además de al menos uno de los siguientes:
    - Biopsia hepática con hepatitis crónica progresiva, puentes de necrosis o cirrosis
    - Afectación ocular, con prueba de Schirmer < 5 mm
    - Afectación de glándulas salivales menores o mucosa oral (demostrado por biopsia de la mucosa o labial)
    - Implicación de cualquier otro órgano diana
- **El sistema de puntuación del NIH** para la gravedad de la EICH crónica fue desarrollado en una Conferencia de Consenso en 2005 y posteriormente revisado en 2014 (Filipovich *et al*, 2005; Jagasia *et al*, 2015). Varios estudios han mostrado que este score predice la SG y la MSR (Arai *et al*, 2011; Cho *et al*, 2008; Palmer *et al*, 2014). El sistema de puntuación del NIH se basa en el número de órganos involucrados y la gravedad individual de cada uno. La gravedad específica de cada órgano se puntúa en una escala de 0 a 3, donde el 0 representa ausencia de afectación o manifestación asintomática y el 3 discapacidad severa (Tabla 1.19).

Tabla 1.19. Gradación de la EICH crónica por órganos.

| Órgano                                                                                                                                                                | Grado 0                        | Grado 1                                                                  | Grado 2                                                                                                              | Grado 3                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PIEL</b><br><br>Exantema máculo-papular<br>Liquen plano-like<br>Pápuloescamoso<br>Queratosis pilaris-like                                                          | Ausente                        | 1-18% SCT                                                                | 19-50% SCT o esclerosis superficial (piel pellizcable)                                                               | > 50% SCT o esclerosis profunda, movilidad reducida, ulceración                                                                                                      |
| <b>BOCA</b><br><br>Liquen plano-like                                                                                                                                  | Ausente o asintomático         | Síntomas leves con signos de enfermedad que no limitan la ingesta        | Síntomas moderados con limitación parcial de la ingesta                                                              | Síntomas severos con gran limitación de la ingesta                                                                                                                   |
| <b>OJOS</b><br><br>Queratoconjuntivitis sicca                                                                                                                         | Ausente o asintomático         | Ojo seco leve que no afecta las AVD (lubricante requerido $\leq$ 3v/día) | Ojo seco moderado que afecta parcialmente las AVD (lubricante requerido $\geq$ 3v/día) sin pérdida de visión por QCS | Ojo seco severo que afecta significativamente las AVD, requiere gafas especiales o incapacidad para trabajar o pérdida de visión por QCS                             |
| <b>GASTROINTESTINAL</b><br><br>Membrana esofágica<br>Contractura esofágica<br>Disfagia<br>Anorexia<br>Náuseas<br>Vómitos<br>Diarrea<br>Pérdida de peso >5% en 3 meses | Ausente                        | Síntomas sin pérdida de peso significativa (<5%)                         | Síntomas con pérdida de peso leve a moderada (5-15%) o diarrea que no interfiere en las AVD                          | Síntomas con pérdida significativa de peso (>15%), requerimientos de nutrición suplementaria o dilataciones esofágicas o diarrea severa con interferencia en las AVD |
| <b>HÍGADO</b>                                                                                                                                                         | BT normal y ALT o FA < 3 x VLN | BT normal con ALT $\geq$ 3-5 x VLN o FA $\geq$ 3 x VLN                   | BT elevada $\leq$ 3 mg/dl o ALT > 5 x VLN                                                                            | BT > 3 mg/dl                                                                                                                                                         |
| <b>PULMÓN</b>                                                                                                                                                         | Asintomático o FEV1 $\geq$ 80% | Síntomas leves (disnea de un piso) o FEV1 60-79%                         | Síntomas moderados (disnea al caminar en llano) o FEV1 40-59%                                                        | Síntomas severos (disnea de reposo, requerimiento de oxígeno) o FEV1 $\leq$ 39%                                                                                      |

|                                |         |                                                                                                                      |                                                                                                                                                          |                                                                                                          |
|--------------------------------|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ARTICULACIONES Y FASCIA</b> | Ausente | Induración leve de brazos o piernas con rango de movilidad normal o ligeramente disminuido sin afectación de las AVD | Induración de brazos o piernas o contracturas articulares, fascitis, rango de movilidad moderadamente disminuida y afectación leve a moderada de las AVD | Contracturas con disminución significativa del rango de movimiento y limitación significativa de las AVD |
| <b>TRACTO GENITAL</b>          | Ausente | Signos leves con o sin molestias                                                                                     | Signos moderados con o sin molestias                                                                                                                     | Signos severos con o sin molestias                                                                       |

SCT: superficie corporal total; QCS: queratoconjuntivitis sicca; AVD: actividades de la vida diaria; BT: bilirrubina total; ALT: alanina aminotransferasa; FA: fosfatasa alcalina; VLN: valor límite de la normalidad; FEV1: volumen espiratorio forzado en el primer segundo. Adaptado de Jagasia *et al.* (Jagasia *et al.*, 2015).

Según esta información, la gravedad global se califica en leve, moderada o grave (Jagasia *et al.*, 2015).

- **Leve:** 1 o 2 órganos afectados sin deterioro funcional clínicamente significativo (grado máximo 1) y pulmón grado 0.
- **Moderada:** 3 o más órganos sin deterioro funcional clínicamente significativo (grado máximo 1) o al menos un órgano (no pulmón) con deterioro funcional clínicamente significativo (grado 2) o pulmón grado 1.
- **Grave:** Al menos 1 órgano con deterioro funcional mayor (grado 3) o pulmón grados 2-3.
- **El sistema de puntuación del CIBMTR** para el riesgo en la EICH crónica (Arora *et al.*, 2011) otorga una puntuación de riesgo de EICH crónica utilizando 10 variables medidas en el momento del diagnóstico de EICH crónica:
  - Edad del receptor:
    - <29 años = 0 puntos
    - 30 a 59 años = 1 punto
    - >60 años = 2 puntos

- EICH aguda previa:
  - ninguno = 0 puntos
  - presente = 1 punto
- Tiempo desde el trasplante hasta el desarrollo de EICH crónica:
  - $\geq 5$  meses = 0 puntos
  - $< 5$  meses = 1 punto
- Bilirrubina sérica en el momento del diagnóstico de la EICH crónica:
  - $\leq 2$  mg/dL = 0 puntos
  - $> 2$  mg/dL = 2 puntos
- Índice de Karnofsky:
  - $\geq 80$  = 0 puntos
  - $< 80$  = 1 punto
- Recuento de plaquetas:
  - $\geq 100 \times 10^9/L$  = 0 puntos
  - $< 100 \times 10^9/L$  = 1 punto
- Tipo de donante:
  - donante hermano o no emparentado HLA-idéntico o parcialmente idéntico = 0 puntos
  - otro = 1 punto
- Estado de la enfermedad en el momento del trasplante:
  - precoz = 0 puntos
  - intermedio = 1 punto
  - avanzado = 2 puntos

- Disparidad de sexo donante/receptor:
  - mujer/hombre = 1 punto
  - otros = 0 puntos
- Profilaxis de EICH:
  - ciclosporina + metotrexato = 0 puntos
  - otro = 1 punto

Se considera enfermedad en fase precoz a los pacientes sometidos a alo-TPH en primera remisión de leucemia aguda, primera fase crónica de leucemia mieloide crónica (LMC) o SMD con anemia refractaria o anemia refractaria con sideroblastos en anillo. La enfermedad en fase intermedia incluye aquellos con leucemia aguda en una segunda o posterior remisión completa, una segunda o posterior fase crónica, o una fase acelerada de LMC. Una fase de enfermedad avanzada incluye pacientes con leucemia aguda refractarios o en recaída, crisis blástica de LMC o SMD con anemia refractaria con exceso de blastos o en transformación.

Usando estas variables, los pacientes podrían dividirse en seis grupos de riesgo (RG) según el puntaje de riesgo general con tasas asociadas de SG y MSR a los cinco años:

- RG1 → 0-2 puntos; 91% SG; 5% MSR
- RG2 → 3 a 6 puntos; 67% SG; 20% MSR
- RG3 → 7 a 8 puntos; 51 % SG; 33% MSR
- RG4 → 9 a 10 puntos; 40 % SG; 43% MSR
- RG5 → 11 puntos; 21 % SG; 63% MSR
- RG6 → 12 puntos; 4 % SG; 67% MSR

#### 1.2.4.6. **Biomarcadores de EICH crónica**

En la Tabla 1.20 se resumen los biomarcadores validados hasta el momento para EICH crónica (Adom *et al*, 2020).

Tabla 1.20. Biomarcadores plasmáticos y celulares de EICH crónica.

| Tipo de biomarcador | Biomarcador                                                     | Asociación                                                                                            | Referencia                                                                                                                |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Plasmático</b>   | Panel de 4 proteínas:<br>ST2<br>CXCL9<br>MMP3<br>OPN            | Niveles elevados se correlacionan con EICHc                                                           | (Yu <i>et al</i> , 2016)                                                                                                  |
|                     | sBAFF                                                           | Niveles elevados se asocian con EICHc activa y MSR. Disminución >50% en respondedores a corticoides   | (Saliba <i>et al</i> , 2017; Sarantopoulos <i>et al</i> , 2007; Fujii <i>et al</i> , 2008; Kariminia <i>et al</i> , 2016) |
|                     | CXCL9                                                           | Su expresión aumentada en células CD4 <sup>+</sup> y CD8 <sup>+</sup> se asocia con EICHc y severidad | (Kitko <i>et al</i> , 2014; Kariminia <i>et al</i> , 2016; Yu <i>et al</i> , 2016; Hakim <i>et al</i> , 2016)             |
|                     | CXCL10                                                          | Expresión aumentada en EICHc                                                                          | (Kariminia <i>et al</i> , 2016; Hakim <i>et al</i> , 2016; Ahmed <i>et al</i> , 2016)                                     |
|                     | MMP3                                                            | Asociación con BO                                                                                     | (Liu <i>et al</i> , 2016)                                                                                                 |
|                     | CCL15                                                           | Aumentado al diagnóstico de EICHc. Niveles elevados se asocian a mayor MSR                            | (Du <i>et al</i> , 2018)                                                                                                  |
|                     | CD163                                                           | Niveles plasmáticos elevados se asocian con EICHc <i>de novo</i>                                      | (Inamoto <i>et al</i> , 2017)                                                                                             |
| <b>Celular</b>      | Células B TLR9 <sup>+</sup>                                     | Niveles aumentados se asocian a EICHc                                                                 | (She <i>et al</i> , 2007)                                                                                                 |
|                     | Células B CD19 <sup>+</sup> /CD21 <sup>-</sup>                  | Niveles aumentados se asocian a EICHc                                                                 | (Greinix <i>et al</i> , 2008; Kuzmina <i>et al</i> , 2013)                                                                |
|                     | Ratio BAFF/células B                                            | Niveles aumentados se asocian a EICHc                                                                 | (Sarantopoulos <i>et al</i> , 2009)                                                                                       |
|                     | Tregs                                                           | Reducidos en EICHc                                                                                    | (Sarantopoulos <i>et al</i> , 2009)                                                                                       |
|                     | Células T CD4 <sup>+</sup> CD146 <sup>+</sup> CCR5 <sup>+</sup> | Altamente expresados en EICHc                                                                         | (Forcade <i>et al</i> , 2017)                                                                                             |
|                     | TFH                                                             | Niveles bajos circulantes en EICHc activa                                                             | (Forcade <i>et al</i> , 2016)                                                                                             |

ST2: suppression of tumorigenicity 2; CXCL9: C-X-C Motif Chemokine Ligand 9; MMP3: matrix metalloproteinase 3; OPN: osteopontina; EICHc: enfermedad de injerto contra huésped crónica; sBAFF: soluble B-cell activating factor; BO: bronquiolitis obliterante; TLR9: toll-like receptor 9; Tregs: células T reguladoras; TFH: T follicular helper cells.

#### 1.2.4.7. **Medidas preventivas**

En primer lugar, dado que el desarrollo de EICH aguda conlleva un aumento de la incidencia de EICH crónica, un régimen más eficaz de prevención de EICH aguda sería la medida óptima de prevención de EICH crónica. Sin embargo, la reducción de EICH crónica siempre se ha visto asociada a largo plazo con recidiva de la enfermedad neoplásica. Las estrategias de prevención de EICH crónica se describen a continuación:

- **Inactivación o depleción de células T del donante:** Tanto la EICH aguda como crónica puede prevenirse eliminando las células T del injerto. Existen 2 métodos para ello: *ex vivo* e *in vivo*.
  - *Ex vivo*: los métodos actuales incluyen el uso de alemtuzumab, un anticuerpo monoclonal anti-CD52 (presente en varias subpoblaciones leucocitarias) que al unirse causa la muerte celular; o el uso de dispositivos inmunomagnéticos que permiten eliminar selectivamente células T, B NK y seleccionar las células progenitoras. Si el injerto contiene menos de  $1 \times 10^4/\text{kg}$  CD3<sup>+</sup>, el riesgo de EICH prácticamente desaparece. Las desventajas son peor reconstitución inmune pos-TPH y mayor riesgo de recaída.
  - *In vivo*: consta del tratamiento del paciente con anticuerpos monoclonales anti-células T. Esta estrategia por un lado reduce la respuesta inmune del receptor favoreciendo el injerto, y por otro, produce una disminución de las células T del injerto, lo que previene la EICH.
- **Combinación de inmunosupresores:** la EICH crónica frecuentemente aparece en paciente con profilaxis farmacológica. Se han utilizado múltiples regímenes con combinaciones de corticoesteroides, ciclosporina, azatioprina, tacrólimus, metotrexato, MFM, sirólimus, talidomida, inmunoglobulinas. Ninguno ha resultado altamente efectivo. Paradójicamente, si bien la EICH aguda es el principal predictor de EICH crónica, los regímenes de inmunosupresores han mostrado disminución de la incidencia de EICH aguda, pero no han tenido el mismo efecto preventivo en la EICH crónica.



- **Fuente del trasplante:** los trasplantes de sangre periférica producen más EICH crónica que los de médula ósea y estos más que los TSCU. Además, la EICH crónica en los trasplantes de sangre periférica es más severa y resistente a tratamiento.

#### 1.2.4.8. Tratamiento de la EICH crónica

No existe un tratamiento aprobado para la EICH crónica. La elección del tratamiento inicial para pacientes con EICH crónica depende de los órganos involucrados, la gravedad de los síntomas, el régimen profiláctico utilizado y, hasta cierto punto, la importancia de un efecto ICT. Al igual que en la EICH aguda la mayoría de las opciones de tratamiento se basan en la inmunosupresión de las células T del donante, que son responsables de las manifestaciones clínicas de la EICH.

Como explicado anteriormente, la gravedad de la EICH crónica está determinada por el grado de compromiso de los órganos diana. La enfermedad leve se puede manejar con tratamiento complementario dirigido a sitios específicos. Cuando las manifestaciones no responden a las medidas locales son candidatos para un tratamiento sistémico.

- **Tratamiento complementario de sitios específicos:**

A continuación se resumen las recomendaciones de las principales guías (Martin *et al*, 2015; Couriel, 2008; Rodgers *et al*, 2012; Vogelsang & Pavletic, 2009; Dignan *et al*, 2012c, 2012a; Wolff *et al*, 2011). En ellas se enfatiza la necesidad de un manejo multidisciplinar de la EICH crónica en el cual participen hematólogos, dermatólogos, odontólogos, ginecólogos, oftalmólogos, digestólogos, hepatólogos, neumólogos, y rehabilitadores.

- **Piel:** la xerosis y descamación de la piel son una manifestación común de la EICH crónica. La atrofia cutánea y la esclerosis favorecen la aparición de úlceras. Los corticoides tópicos son el tratamiento de primera línea al igual que los ICN tópicos. Se debe recomendar a los pacientes el uso frecuente de emolientes, protección solar y revisión anual por dermatología.
- **Boca:** una buena higiene oral y dental es muy importante. Se recomiendan fluoruros tópicos para prevenir la caries y revisiones por un odontólogo cada 6 meses. Los corticoides tópicos en enjuague o gel de orabase son el tratamiento de primera línea. La ciclosporina y los ICN tópicos también han

mostrado ser útiles. Aunque se ha usado saliva artificial, muchos pacientes prefieren beber agua con frecuencia. También pueden utilizarse agentes parasimpáticos como la pilocarpina para estimular la salivación. Los anestésicos tópicos pueden ser útiles para el control del dolor. La fotoféresis extracorpórea se recomienda como segunda línea en casos refractarios. Los ejercicios de estiramiento pueden aumentar el rango de apertura oral en casos de esclerosis perioral.

- **Ojos:** el ojo seco produce fotofobia y dolor por lo que hay que recomendar el uso de gafas de sol. Otras medidas como el uso de lágrimas artificiales o suero autólogo pueden ser útiles. Si los lubricantes son insuficientes, se pueden colocar tapones en la vía lagrimal. En grados severos se pueden utilizar inmunosupresores en colirio (ciclosporina).
- **Tracto genital:** Los corticoides tópicos de alta potencia y los ICN tópicos están recomendados como tratamiento de primera línea. El uso de hidratantes puede mejorar los síntomas. Algunas pacientes pueden requerir terapia de reemplazo hormonal. En los casos de EICH crónica esclerótica puede llegar a producirse estenosis y requerir de dilataciones mecánicas.
- **Tracto gastrointestinal:** los pacientes pueden tener dificultad para tragar y se pueden producir estenosis esofágicas que pueden requerir una dilatación mecánica. Los pacientes con diarrea deben someterse a una evaluación que incluya cultivos, pruebas para detectar la toxina de *C. difficile*, cultivos de citomegalovirus y endoscopia. Se suelen usar corticoides orales de efecto local como la budesonida y medicamentos antidiarreicos (loperamida, ocreótido). En casos de insuficiencia pancreática crónica es necesario suplementar el déficit enzimático, así como sales biliares en casos de malabsorción.
- **Hígado:** los corticoides son el principal tratamiento. El ácido ursodeoxicólico mejora la colestasis y el prurito. Otras medidas de soporte incluyen vitamina K, espironolactona y albúmina.
- **Pulmón:** Los corticoides sistémicos se recomiendan a dosis de 1 mg/kg/día. Otras medidas complementarias como oxígeno, broncodilatadores, corticosteroides inhalados y rehabilitación pulmonar pueden ser beneficiosos.

- **Aparato locomotor:** los pacientes con EICH crónica a menudo desarrollan contracturas articulares, inflamación de las extremidades, atrofia muscular y debilidad. También pueden presentar miopatía inducida por corticosteroides y cambios escleróticos en la piel y la fascia que pueden limitar la movilidad articular. La terapia física y ocupacional debe considerarse para pacientes con una capacidad reducida para realizar actividades de la vida diaria. Los pacientes con EICH crónica deben ser evaluados para determinar la pérdida ósea acelerada.
- **Tratamiento sistémico:** Las características asociadas con un alto riesgo de morbilidad y mortalidad relacionadas con la EICH crónica, y que son indicaciones para un tratamiento sistémico son las siguientes:
  - Afectación de tres o más órganos
  - Cualquier órgano individual con puntuación de gravedad > 2
  - Trombocitopenia persistente ( $<100 \times 10^9/L$ )
  - EICH crónica que ha evolucionado a partir de EICH aguda (EICH crónica progresiva)

Se debe alentar a los pacientes con EICH crónica que requieren tratamiento sistémico a participar en ensayos clínicos. Para los pacientes que no son elegibles o que no desean participar en un ensayo clínico, los corticosteroides en monoterapia son la elección más aconsejable. El objetivo es usar la cantidad mínima de corticosteroides necesaria para controlar los síntomas. La prednisona se suele comenzar con una dosis de 1 mg/kg/día. La adición de un ICN está justificada en pacientes con progresión después de dos semanas de prednisona o falta de respuesta entre cuatro y seis semanas.

En los pacientes con progresión o falta de respuesta, se considera que la enfermedad es resistente y se recomienda cambiar el tratamiento. Sin embargo, se desconoce cuál es la mejor alternativa para estos pacientes. Si no son elegibles o no desean participar en un ensayo clínico, las principales opciones son los tratamientos no farmacológicos, como la fotoféresis extracorpórea y la irradiación ultravioleta A con psoralenos (PUVA) o ultravioleta B de banda estrecha, y el uso de fármacos inmunosupresores adicionales (ver apartado 1.2.3.8 tratamiento de la EICH aguda). La elección entre estos agentes debe

tomar en consideración los órganos involucrados, las comorbilidades del paciente, la experiencia del médico y los recursos disponibles.

En este contexto, a menudo se recurre a la fotoféresis extracorpórea además de prednisona y un ICN. Sin embargo, la fotoféresis extracorpórea solo está disponible en centros especializados y requiere la colocación de un catéter venoso central. El uso de otros agentes inmunosupresores e inmunomoduladores (Wolff *et al*, 2011) como MFM, sirólimus, ruxolitinib (Jagasia *et al*, 2018; Khoury *et al*, 2017), ibrutinib (Miklos *et al*, 2017) y rituximab (Brownback *et al*, 2017; Heinzerling *et al*, 2000), entre otros, debe hacerse siempre en el contexto de un ensayo clínico.

- **Otras medidas de soporte:** Los pacientes con EICH crónica están inmunocomprometidos, por lo que además del tratamiento específico para cada órgano, deben recibir profilaxis para infecciones bacterianas, virales y fúngicas. Se recomienda la administración de vacunas cuando la dosis de prednisona está por debajo de 0,5 mg/kg/día, excepto las vacunas vivas que están contraindicadas.

### 1.2.4.9. Evaluación de la respuesta al tratamiento

La conferencia de consenso del NIH propone 3 categorías de respuesta global (Lee *et al*, 2015):

- **Respuesta completa:** resolución de todas las manifestaciones en todos los órganos.
- **Respuesta parcial:** mejoría en al menos un órgano, sin progresión en otros.
- **No respuesta:**
  - Progresión en algún órgano.
  - Respuesta mixta: respuesta completa o parcial en un órgano acompañado de progresión en otro órgano.
  - Sin cambios: no se cumplen criterios de respuesta completa, parcial, progresión o mixta.

### 1.2.5. Manifestaciones cutáneas de la EICH aguda

#### 1.2.5.1. Lesiones cutáneas

La afectación cutánea es la manifestación más frecuente (20%-70%) y precoz de la EICH aguda. Generalmente aparece entre 2 a 6 semanas del trasplante pero puede ocurrir en cualquier momento tras el injerto hematopoyético (Penas & Zaman, 2010; Hymes *et al*, 2012). Las lesiones cutáneas típicamente empiezan como máculas eritematosas en las orejas, palmas y plantas (Figura 1.6). Las zonas laterales del cuello, mejillas y zona alta de la espalda son otras regiones de afectación temprana (Penas & Zaman, 2010). Se han descrito lesiones papulares foliculo-centradas que simulan una foliculitis (Friedman *et al*, 1988). La erupción cutánea puede ser pruriginosa o dolorosa y estar precedida por sensación urente o de prurito (Penas & Zaman, 2010).



Figura 1.6. Áreas de afectación inicial del exantema en la EICH cutánea aguda.

Exantema máculopapular (1) afectación del cuello y zona retroauricular. (2) Afectación de las manos y (3) afectación de las plantas.

A partir de estas áreas, en los casos severos la erupción puede extenderse y afectar a todo el tegumento. Cuando afecta a más del 80% de la superficie corporal total (SCT) se considera eritrodermia. En los casos más graves pueden formarse ampollas que confluyen produciendo despegamiento y necrosis epidérmica simulando una necrólisis epidérmica tóxica (Figura 1.7).



Figura 1.7. Paciente con EICH cutánea aguda grave.

Necrosis cutánea y despegamiento dermo-epidérmico a nivel del dorso (1) y glúteos (2).

Se han descrito formas raras de presentación de EICH aguda cutánea, incluyendo una erupción escarlatiniforme, un cuadro clínico sugestivo de varicela (Vargas-Díez *et al*, 2005), una variedad ictiosiforme (Chao *et al*, 1998), y una forma inusual de acantosis nígricans rápidamente progresiva (García-Díez *et al*, 1987).

### 1.2.5.2. Lesiones orales

El desarrollo de mucositis oral es muy frecuente en el periodo pos-TPH afectando al 90% de los pacientes (Vargas-Díez *et al*, 2005). Esta es debida a múltiples factores, sobre todo la quimioterapia, neutropenia e infecciones. Algunos



trabajos describen que entre el 33 y el 75% de los pacientes con EICH aguda presentan afectación oral (Schubert & Sullivan, 1990). El espectro de manifestaciones orales descritas incluye eritema, erosiones, úlceras, lesiones liquenoides, disfunción de las glándulas salivales, xerostomía y dolor. Sin embargo, se conoce poco de la EICH aguda oral debido a la dificultad de diferenciarla de la mucositis por fármacos (Vargas-Díez *et al*, 2005) . Algunos autores sugieren que las lesiones que persisten más de 3 semanas tras el TPH o que afectan el paladar duro (localización poco frecuente de mucositis por quimioterapia) sean debidas más probablemente a EICH (Vargas-Díez *et al*, 2005). La afectación oral no se considera como criterio diagnóstico de EICH aguda ni está incluida en las escalas de gravedad.

#### 1.2.5.3. **Gradación**

Al igual que en la afectación hepática e intestinal (Tabla 1.5) se utiliza una escala para graduar la afectación cutánea. Esta se basa en la superficie corporal afectada y la gravedad de las lesiones de la siguiente manera (Figura 1.8):

- **Grado 1:** exantema maculopapular <25% de la SCT
- **Grado 2:** exantema maculopapular en un 25-50% de la SCT
- **Grado 3:** exantema generalizado (más del 50% de la SCT)
- **Grado 4:** exantema generalizado con formación de ampollas o despegamiento



Figura 1.8. Imágenes de pacientes con EICH cutánea aguda.

(1) Grado 3: Exantema máculopapular de más del 50% de la SCT. (2) Grado 2: exantema en un 25-50% SCT. (3) Grado 4: despegamiento cutáneo.

La combinación de los estadios cutáneo, intestinal y hepático (Tabla 1.5) determinan el grado global de EICH aguda (ver apartado 1.2.3.4). La presencia de eritrodermia y ampollas es suficiente para diagnosticar una EICH grado 4 y está asociada a mal pronóstico.

#### 1.2.5.4. **Diagnóstico**

El diagnóstico de EICH aguda es clínico y no se debe demorar por la realización de pruebas complementarias como la biopsia de piel. El exantema de la EICH aguda no es patognomónico y debe distinguirse de otras dermatosis con clínica



similar. La histología puede ser útil para el diagnóstico, pero al igual que la clínica, no es específica y requiere de la correlación clínico-patológica. En general el diagnóstico de EICH aguda se acepta cuando hay una erupción cutánea consistente que ocurre durante el periodo de recuperación linfocítica acompañado de cambios compatibles en la histología (Häusermann *et al*, 2013).

#### 1.2.5.5. Estudio histológico

El examen histológico de la piel revela cambios en la epidermis y en la dermis. Aunque no existen signos patognomónicos, el hallazgo clave es una dermatitis de interfase con degeneración vacuolar de la capa basal epidérmica y un infiltrado linfocítico en la dermis superficial (Fischer *et al*, 2015). Para algunos autores la característica histológica más consistente es la muerte celular individual de los queratinocitos (apoptosis) (Vargas-Díez *et al*, 2005). El infiltrado inflamatorio es mononuclear, puede ser escaso y de predominio perivascular, o más extenso. Está compuesto por linfocitos CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, en ocasiones con predominio de uno de estos tipos (Penas & Zaman, 2010). Algunos autores han encontrado NK (Acevedo *et al*, 1991), mientras que los linfocitos B están ausentes. Es común la migración de linfocitos a la epidermis (exocitosis). La presencia de linfocitos satélite (1 o más linfocitos alrededor de queratinocitos necróticos) también apoya el diagnóstico de EICH aguda (Hymes *et al*, 2012). En los casos más severos se puede observar edema intercelular, acantólisis, despegamiento subepidérmico y necrosis de todo el espesor de la epidermis (Goker *et al*, 2001).

La gravedad histológica de la EICH aguda se categoriza de la siguiente manera (Lerner *et al*, 1974) (Figura 1.9):

- **Grado 0:** piel normal o cambios no atribuibles a EICH
- **Grado 1:** vacuolización de la capa basal en la unión dermo-epidérmica
- **Grado 2:** vacuolización de la capa basal, queratinocitos necróticos, infiltrado linfocitario
- **Grado 3:** Grado 2 más hendiduras en la unión dermo-epidérmica
- **Grado 4:** Grado 2 más despegamiento dermo-epidérmico

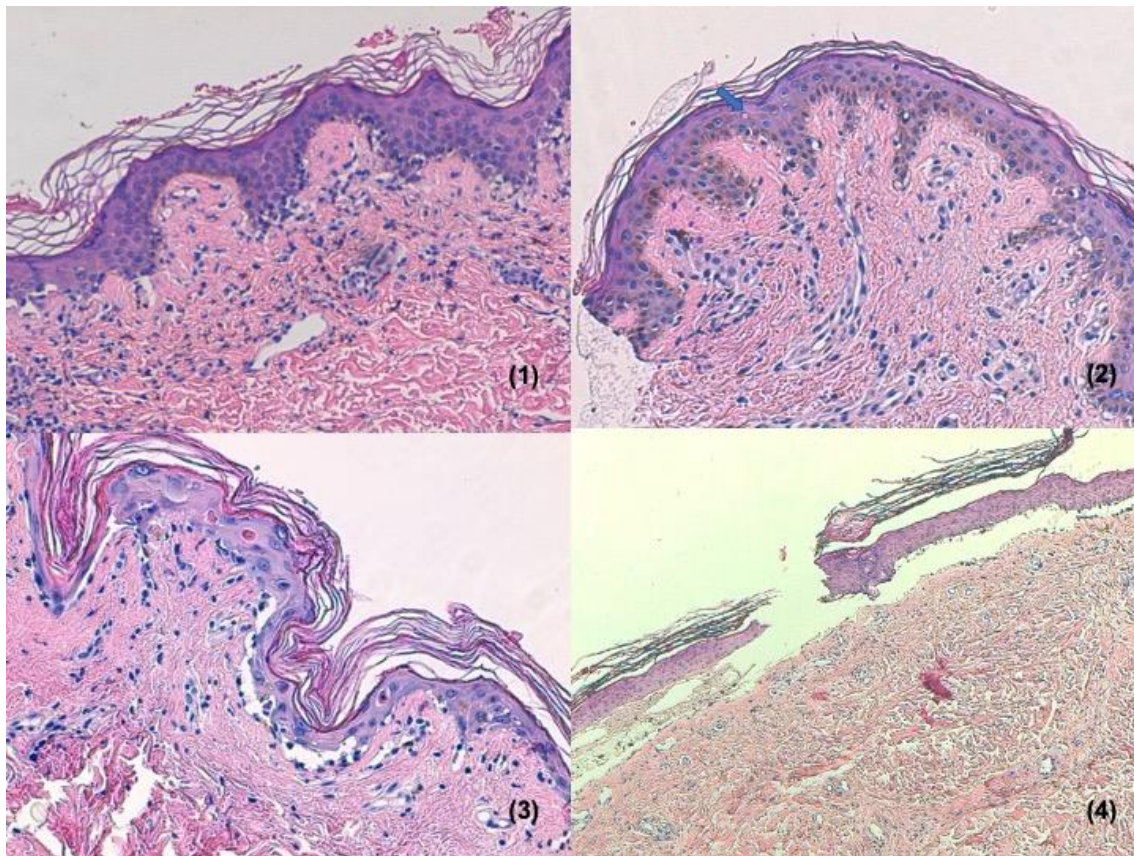


Figura 1.9. Grados histológicos de la EICH aguda cutánea.

(1) Grado 1: vacuolización de la capa basal. (2) grado 2: vacuolización de la capa basal, queratinocitos necróticos (flecha azul), infiltrado linfocitario. (3) Formación de hendiduras en la unión dermo-epidérmica. (4) Despegamiento dermo-epidérmico.

La sensibilidad y especificidad de la biopsia cutánea no están establecidas. Las biopsias obtenidas en etapas precoces en el curso de la EICH pueden no mostrar cambios y además los hallazgos histológicos no modifican la decisión de tratamiento. Por otro lado, no se ha encontrado ningún hallazgo histológico que determine qué pacientes van a progresar a grados más severos (Kohler *et al*, 1997). Sin embargo, dado que la biopsia es un procedimiento relativamente sencillo, puede aportar información que sumada a la clínica apoye el diagnóstico de EICH y que permite establecer causas alternativas de erupción cutánea, se continua recomendando (Hillen *et al*, 2015). El momento más adecuado para realizar la biopsia tampoco está establecido. Los tratamientos inmunosupresores sistémicos y tópicos pueden inducir cambios histológicos, por lo que se recomienda obtener la biopsia antes de las intervenciones terapéuticas (Hillen *et al*, 2015).

#### 1.2.5.6. **Diagnóstico diferencial**

Otros varios procesos pueden presentar una clínica e histología similares a la EICH aguda:

##### 1.2.5.6.1 **Reacciones por fármacos**

- **Erupciones máculopapulares o morbiliformes**

La EICH aguda puede ser indistinguible de las reacciones por fármacos. Estas, a diferencia de la EICH, típicamente comienzan por el tronco y se extienden hacia las extremidades (Svensson *et al*, 2001). Un estudio mostró que la afectación facial y más si se acompaña de compromiso palmo-plantar sugiere el diagnóstico de EICH frente a toxicodermias. En el mismo estudio, la presencia de diarrea con o sin hiperbilirrubinemia también favorecieron el diagnóstico de EICH (Byun *et al*, 2011).

A nivel histológico, la presencia de eosinófilos se asocia a reacciones por fármacos. Un estudio cuantitativo del número de eosinófilos mostró que las toxicodermias tenían en promedio más eosinófilos que la EICH aguda y que ésta es poco probable con más de 16 eosinófilos por 10 campos de gran aumento (Weaver & Bergfeld, 2010). Sin embargo, estos hallazgos no han sido confirmados en otros estudios y algunos autores advierten que incluso puede dificultar más la toma de decisiones clínicas y retrasar el inicio del tratamiento inmunosupresor (Marra *et al*, 2004).

Kohler *et al*. estudiaron 179 biopsias cutáneas (98 EICH y 81 no EICH) evaluando 16 parámetros, incluyendo la presencia de vacuolización basal, queratinocitos disqueratósicos, satelitosis (queratinocitos disqueratósicos rodeados por linfocitos) y necrosis de queratinocitos. Ningún parámetro por sí solo o en combinación obtuvo significancia estadística para distinguir entre ambos diagnósticos

Por otro lado, la quimioterapia y radiación del acondicionamiento también pueden producir cambios histológicos indistinguibles de la EICH aguda, aún en piel clínicamente normal (Lever *et al*, 1986) .

- **Síndrome de Stevens-Johnson (SSJ) / Necrolisis epidérmica tóxica (NET)**

Los casos severos de EICH aguda (grado 4) presentan características clínicas e histológicas similares al SSJ/NET, una reacción cutánea severa inducida por

fármacos. La NET típicamente comienza con lesiones en diana atípicas, máculas eritemato-violáceas con una tonalidad opaca grisácea que rápidamente progresan a formación de ampollas extensa y despegamiento cutáneo (Svensson *et al*, 2001). La histología muestra ampollas subepidérmicas y necrosis epidérmica. Distinguir entre EICH aguda grave y NET puede resultar imposible.

- **Eritema multiforme (EM)**

El EM es una respuesta inmunomediada que ocurre frecuentemente en el contexto de infección por virus herpes simple. Así como en la EICH aguda, los hallazgos histopatológicos incluyen vacuolización de la capa basal, queratinocitos necróticos, y hendiduras subepidérmicas. La identificación clínica de lesiones en diana típicas sugiere el diagnóstico de EM (Svensson *et al*, 2001).

- **Eritema acral (eritrodisestesia palmoplantar)**

Es un efecto secundario relativamente frecuente y localizado de la quimioterapia (más comúnmente doxorubicina, docetaxel, fluorouracilo y citarabina). Suele aparecer precozmente tras el TPH por el régimen de acondicionamiento. Al igual que la EICH aguda afecta palmas y plantas, produciendo disestesia acral seguido eritema y edema doloroso simétrico (Penas & Zaman, 2010). Puede producirse descamación, aparición de ampollas o ulceraciones. Histológicamente suele observarse un leve infiltrado linfocítico perivascular que puede acompañarse de edema sub-basal, ampollas, capilares sanguíneos y linfáticos dilatados. Suele manejarse con compresas frías (Penas & Zaman, 2010)

- **Siringometaplasia escamosa ecrina**

Se trata de una erupción producida por fármacos citostáticos que se caracteriza por una erupción eritematosa macular o en placas que afecta las zonas intertriginosas (axilas, ingles, cuello) de forma bilateral (Bittar *et al*, 2018; Carrascosa *et al*, 2014; Nethers *et al*, 2017). La característica histológica es el cambio metaplásico de las células cuboidales del epitelio de las glándulas ecrinas en dos o más capas de células escamosas (siringometaplasia) (Bittar *et al*, 2018). Suele resolverse espontáneamente o con corticoides tópicos o sistémicos.

Una posible explicación de la similitud de la EICH con las reacciones por fármacos es que por un lado la fisiopatología de ambos procesos está mediada por las mismas células efectoras, los linfocitos T. También se ha propuesto que la piel de

pacientes severamente inmunodeprimidos tenga un patrón de reacciones limitado, lo que contribuye al solapamiento de los hallazgos histológicos (Marra *et al*, 2004).

#### 1.2.5.6.2 Exantemas virales

Las infecciones virales sobre todo HHV-6 y 7, VEB y CMV pueden ser causa de exantemas cutáneos en pacientes trasplantados (Penas & Zaman, 2010). La histología generalmente muestra un infiltrado linfocítico perivascular. Solo en algunos casos se encuentran hallazgos específicos como las inclusiones intranucleares que son útiles para distinguir los cuadros virales de la EICH. Varios estudios sugieren una relación entre reactivación de HHV-6 y el desarrollo de EICH (Kitamura *et al*, 2008; Yoshikawa *et al*, 2001) aunque el mecanismo aún no se ha dilucidado.

#### 1.2.5.6.3 Erupción por injerto leucocitario

El injerto leucocitario es el retorno de los linfocitos a la circulación periférica tras ablación de la médula ósea. Esta erupción es autolimitada y cursa con fiebre transitoria (Horn *et al*, 1989). A diferencia de la EICH, no se acompaña de alteraciones hepáticas ni síntomas gastrointestinales. Los hallazgos histológicos muestran un infiltrado mononuclear superficial (Horn *et al*, 1989), y en ocasiones puede simular una EICH aguda grado 1 o 2 (Bauer *et al*, 1993).

#### 1.2.5.6.4 Síndrome del injerto

Se presenta con una erupción cutánea similar a la EICH aguda, pero se acompaña de fiebre no infecciosa y signos de fuga capilar (edema pulmonar, aumento de peso, insuficiencia renal) (Spitzer, 2001).

#### 1.2.5.6.5 Radiodermatitis

La radiodermatitis aguda se manifiesta con eritema, descamación, ampollas o necrosis cutánea. Las características histológicas son similares a la EICH aguda, evidenciando vacuolización de la capa basal, queratinocitos apoptóticos, satelitosis y un infiltrado inflamatorio linfocitario superficial perivascular (Aragüés *et al*, 2017).

### 1.2.6. Manifestaciones mucocutáneas de la EICH crónica

#### 1.2.6.1. Piel

Así como en la EICH aguda, la afectación cutánea es también la más frecuente de la EICH crónica, aunque prácticamente todos los órganos y sistemas pueden estar afectados (Tabla 1.18). Tradicionalmente, la EICH cutánea crónica se ha clasificado como liquenoide (similar al liquen plano) o esclerótica (similar a la esclerodermia); sin embargo, ahora se reconocen muchas presentaciones clínicas diferentes que reflejan un espectro de cambios epidérmicos y dérmicos.

- **Manifestaciones cutáneas diagnósticas** de EICH crónica sin necesidad de pruebas adicionales o evidencia de compromiso de otros órganos (Jagasia *et al*, 2015) (Tabla 1.18, Figura 1.10):
  - **Lesiones liquen plano-like:** pápulas o placas eritemato-violáceas con predilección por la cara dorsal de manos y pies, antebrazos y tronco. Pueden tener descamación y frecuentemente son pruriginosas. Las lesiones liquen plano-like también pueden aparecer con distribución follicular, dando un aspecto de queratosis pilaris (Filipovich *et al*, 2005). Aunque las lesiones liquenoides se consideran una forma más temprana de EICH crónica que la forma esclerótica, esta última no siempre está precedida por las lesiones liquenoides (Penas *et al*, 2002).
  - **Manifestaciones escleróticas:** la esclerosis es una manifestación común en la EICH crónica. Un estudio de 977 pacientes mostró que el 20% tenían esclerosis (definida como esclerosis cutánea, fascitis o contracturas articulares) a los 3 años del inicio del tratamiento de la EICH crónica (Inamoto *et al*, 2013).

Las manifestaciones escleróticas pueden surgir en zonas de lesiones liquen plano-like o en áreas de piel sana, y pueden aparecer en cualquier localización. La profundidad en la piel en la que ocurre la esclerosis determina la presentación clínica (Schaffer *et al*, 2005):

- **Liquen escleroso-like:** cuando la esclerosis ocurre en la dermis superficial, las lesiones son similares al liquen escleroso. Esta dermatosis se caracteriza por atrofia epidérmica y fibrosis dérmica superficial. Suele afectar la zona alta de la espalda con lesiones de coloración blanca nacarada.



- **Morfea-like:** resulta de esclerosis a nivel de la dermis. Esta variante se presenta con placas firmes, hiper o hipopigmentadas, o del color de la piel. La piel afectada a menudo tiene un aspecto brillante con pérdida de anejos cutáneos. En algunos casos las lesiones surgen en zonas de trauma reflejando el fenómeno de Koebner, por ejemplo lesiones lineales a nivel de la cintura (Patel *et al*, 2008). La afectación extensa de la pared torácica puede producir enfermedad pulmonar restrictiva.
- **Esclerosis profunda / fascitis eosinofílica-like:** la esclerosis a nivel subcutáneo produce un aspecto ondulado debido al engrosamiento de los septos fibrosos de la hipodermis que suele ser visible en brazos y muslos. La afectación de la fascia tiende a ocurrir más tardíamente en el período crónico y puede llevar a la aparición de demarcaciones lineales prominentes, denominadas "signo del surco" y contracturas articulares que limitan el rango de movilidad articular. En casos tipo fascitis eosinofílica, estos hallazgos se acompañan de edema y dolor (Schaffer *et al*, 2005).
- **Poikilodermia:** se presenta como una combinación de atrofia, hipo e hiperpigmentación en la piel que generalmente aparece como parches con pigmentación moteada y telangiectasias.



Figura 1.10. Manifestaciones cutáneas diagnósticas de EICH crónica.

(1) Lesiones lique plano-like en la zona alta de la espalda. (2) Placas liquen escleroso-like en cara posterior del brazo. (3) Placa de morfea en hipocondrio derecho. (4) Esclerosis profunda en zona del abdomen. (5) Poikilodermia.

- **Manifestaciones distintivas** que por sí solas son insuficientes para establecer el diagnóstico y requieren de la confirmación de EICH en otros órganos (Jagasia *et al*, 2015):



- Despigmentación y lesiones pápuloescamosas
- **Otras manifestaciones cutáneas** incluyen hipohidrosis, ictiosis, queratosis pilaris, hipo e hiperpigmentación, eritema, exantema maculopapular, prurito (Filipovich *et al*, 2005) (Figura 1.11). Estas características son inespecíficas y no son útiles para establecer el diagnóstico de EICH (Jagasia *et al*, 2015).



Figura 1.11. Otras manifestaciones de EICH cutánea crónica.

(1) Eritema y descamación en el dorso de las manos. (2) Eritema en la espalda.

#### 1.2.6.2. **Boca**

Entre el 45-83% de los pacientes con EICH crónica desarrollan afectación oral (Imanguli *et al*, 2008). Suele presentarse como estrías blanquecinas reticuladas que se asemejan a las estrías de Wickham del liquen plano. Estas se localizan en la mucosa bucal, lengua, labios o paladar (Figura 1.12). También puede observarse eritema de la mucosa, erosiones, ulceración y placas hiperqueratósicas (Imanguli *et al*, 2008). La única manifestación oral diagnóstica de EICH crónica son las lesiones tipo liquen-plano (Tabla 1.18).

Además, los pacientes pueden presentar síndrome de sicca similar al observado en el síndrome de Sjögren, secundario a disfunción de las glándulas salivales. La inflamación de las glándulas salivales puede producir obstrucción del conducto salival y retención de sialomucina en las glándulas produciendo mucocelos (Imanguli *et al*, 2008). En casos de EICH esclerótico, la esclerosis perioral puede restringir la apertura bucal y dificultar la higiene y nutrición.

Una complicación rara asociada a la EICH crónica oral es la aparición de un carcinoma de células escamosas oral. La mayor edad al trasplante y EICH crónica extensa son factores de riesgo de desarrollo de carcinoma de células escamosas (Imanguli *et al*, 2008).



Figura 1.12. Lesiones de EICH crónica oral.

(1) Eritema y una placa hiperqueratósica en la mucosa bucal. (2) y (3) Estrías blanquecinas tipo liquen plano en mucosa bucal y labios. (4) Mucocelos en la mucosa oral.

#### 1.2.6.3. **Pelo y uñas**

Ninguna de las alteraciones del pelo y uñas es criterio diagnóstico de EICH crónica (Tabla 1.18). Los hallazgos distintivos en el cuero cabelludo y el vello corporal incluyen alopecia (cicatricial o no cicatricial), lesiones papuloescamosas en cuero cabelludo, encanecimiento prematuro y adelgazamiento del tallo piloso. El aspecto del pelo es áspero y sin brillo (Jagasia *et al*, 2015).

Los signos distintivos de las uñas incluyen fragilidad ungueal, surcos longitudinales, onicosquiosis, onicolisis, pterigium unguis. La distrofia ungueal puede ser leve o producir pérdida total de las uñas (anoniqia) (Figura 1.13) (Jagasia *et al*, 2015).

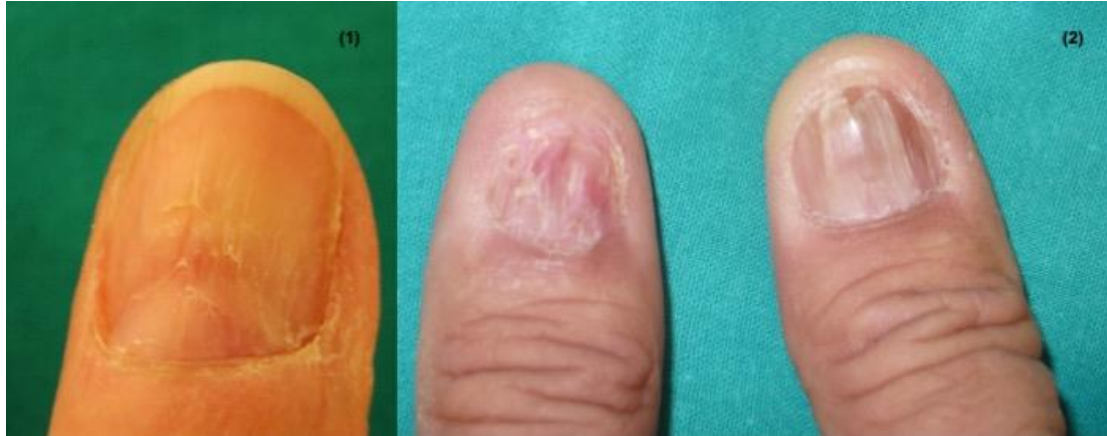


Figura 1.13. Manifestaciones ungueales de EICH crónica.

(1) Pterigium unguis en 1º uña de la mano. (2) Anoniqia 1ª uña de la mano izquierda, cambios tipo liquen plano ungueal en 1ª uña de la mano derecha.

#### 1.2.6.4. Ojos

Aproximadamente el 40%-60% de los pacientes adultos con EICH crónica tendrán afectación ocular, aunque la afectación grave es poco frecuente (Jacobs *et al*, 2012). Los síntomas pueden variar desde ojo seco leve hasta dolor ocular y pérdida de visión.

Los signos distintivos de EICH ocular son: ojo seco de aparición reciente, sensación de arenilla o dolor, conjuntivitis cicatricial, queratoconjuntivitis sicca y áreas confluentes de queratopatía punctata (Tabla 1.18) (Jagasia *et al*, 2015). Otros síntomas incluyen: fotofobia, hiperpigmentación periorbitaria y blefaritis (Jagasia *et al*, 2015).

La xeroftalmia documentada con test de Schirmer  $\leq 5$  mm a los 5 minutos o queratoconjuntivitis sicca en el examen de lámpara de hendidura con test de Schirmer entre 6-10 mm se consideran diagnóstico de EICH crónica ocular para el inicio de tratamiento y para ensayos diseñados específicamente para EICH ocular. Para el diagnóstico general de EICH crónica se requiere una característica distintiva adicional (Jagasia *et al*, 2015).

### 1.2.6.5. Tracto genital

Las características diagnósticas de EICH crónica genital incluyen manifestaciones liquen plano-like, liquen escleroso-like, adhesiones o estenosis vaginales, reabsorción y sinequias de tejidos (sobre todo labios y clítoris en mujeres), fimosis y estenosis del meato uretral (varones). Las características distintivas son erosiones, fisuras y úlceras (Tabla 1.18). Otros síntomas referidos son sequedad, prurito, disuria, dispareunia y disfunción sexual (Jagasia *et al*, 2015).

Se recomienda exploración genital incluso en pacientes asintomáticos, sobre todo si hay EICH crónica oral, ya que la presencia de ambas está frecuentemente asociada (Marks *et al*, 2011).

### 1.2.6.6. Diagnóstico

Para hacer el diagnóstico de EICH crónica, debe estar presente al menos un signo clínico diagnóstico de EICH crónica o una manifestación distintiva confirmada mediante biopsia u otras pruebas relevantes (por ejemplo, biopsia, prueba de Schirmer) en el mismo u otro órgano (ver apartado 1.2.4.4). Las manifestaciones diagnósticas y distintivas de EICH crónica están recogidas en la Tabla 1.18.

### 1.2.6.7. Gradación

La gravedad específica de cada órgano se puntúa en una escala de 0 a 3, donde el 0 representa ausencia de afectación o manifestación asintomática y el 3 discapacidad severa. La gravedad cutánea se valora según el porcentaje de SCT afectada por exantema, lesiones tipo liquen plano, pápuloescamosas o queratosis pilaris-like, además de la presencia de esclerosis superficial o profunda (Tabla 1.9).

- **Grado 0:** ausencia de afectación cutánea
- **Grado 1:** afectación del 1-18% de la SCT
- **Grado 2:** afectación del 19-50% de la SCT o esclerosis superficial
- **Grado 3:** afectación de más del 50% de la SCT o esclerosis profunda, movilidad reducida o ulceración

La gradación global de la EICH crónica se basa en el grado y número de órganos afectados como se ha descrito en el apartado 1.2.4.5.

#### 1.2.6.8. **Estudio histológico**

Las características histológicas de la EICH crónica varían de acuerdo al tipo de manifestación cutánea esquematizadas en la Figura 1.14:

- **Lesiones liquen plano-like:** los hallazgos son similares al liquen plano con hiperqueratosis, hipergranulosis, acantosis, queratinocitos disqueratósicos, queratinocitos basales necróticos y degeneración vacuolar de la capa basal (Penas & Zaman, 2010). La dermatitis de interfase puede ser de leve a un infiltrado en banda que puede contener células plasmáticas y eosinófilos. Puede observarse incontinencia de pigmento. Parece ser que los pacientes que presentan todas las características histológicas típicas de EICH liquenoide podrían tener peor pronóstico (Vargas-Díez *et al*, 2005).
- **Lesiones escleróticas:** la esclerosis cutánea puede tener o no cambios epidérmicos liquenoides suprayacentes aunque estos cambios suelen ser menos aparentes (Vargas-Díez *et al*, 2005).
  - **Liquen escleroso-like:** característicamente muestran atrofia epidérmica con edema y homogenización del colágeno en la dermis superficial (Penas & Zaman, 2010).
  - **Morfea-like:** las lesiones muestran haces de colágeno engrosados en la dermis con pérdida de estructuras anexiales. En ausencia de cambios epidérmicos, puede ser indistinguible de la morfea o esclerosis sistémica (Vargas-Díez *et al*, 2005).
  - **Esclerosis profunda / fascitis eosinofílica-like:** presenta afectación del tejido celular subcutáneo con un infiltrado linfocítico en la interfase dermis-grasa, con engrosamientos de los septos. Para evaluar la afectación de la fascia se requieren de biopsias profundas. La resonancia nuclear magnética podría tener valor para el diagnóstico de esclerosis profunda y fascitis (Clark *et al*, 2009).

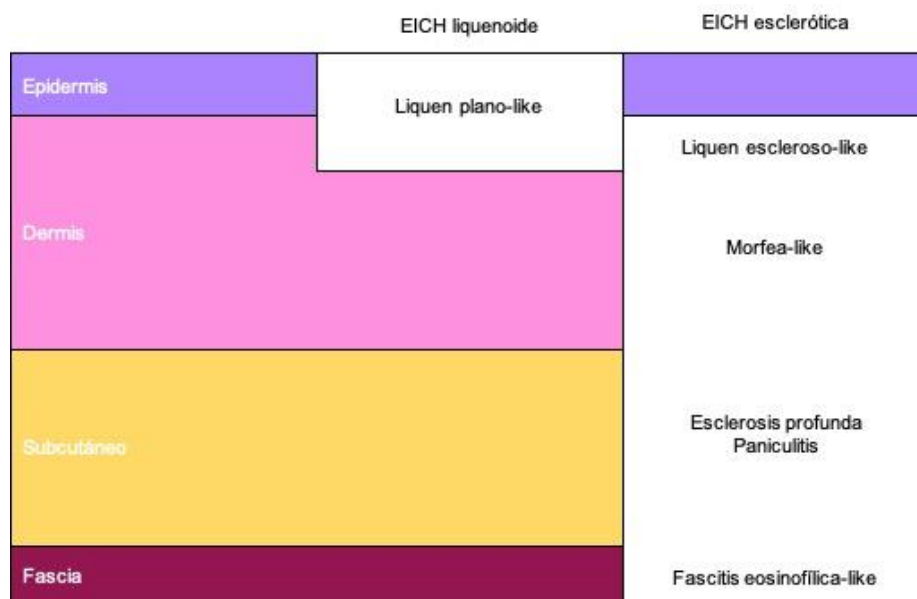


Figura 1.14. Esquema de las manifestaciones cutáneas e histológicas de la EICH crónica. Adaptado de Peña (Penas & Zaman, 2010).

#### 1.2.6.9. Diagnostico diferencial

Así como en la EICH aguda, varias entidades comparten características clínicas e histológicas con la EICH crónica. El diagnóstico diferencial incluye infecciones virales y reacciones por fármacos, entre otros. Además, dada la diversidad de presentaciones clínicas y afectación de múltiples órganos, la EICH crónica debe ser diferenciada de enfermedades sistémicas autoinmunes como el lupus eritematoso, esclerodermia, síndrome de Sjögren y artritis reumatoide (Penas & Zaman, 2010). Por otro lado, se han observado casos de EICH crónica manifestados como miositis, polimiositis y dermatomiositis, por lo que también son importantes diagnósticos diferenciales (Ollivier *et al*, 1998).

El liquen plano es el principal diagnóstico diferencial en la EICH crónica liquenoide. Las lesiones de la EICH pueden ser menos anguladas con bordes peor definidos. La afectación de las muñecas, tobillos y zona pretibial son localizaciones típicas del liquen plano. A nivel histológico, en la EICH liquenoide el infiltrado superficial en banda suele ser menos denso (Vargas-Díez *et al*, 2005).

Las lesiones escleróticas pueden simular el liquen escleroso, morfea, esclerosis sistémica y fascitis eosinofílica. A diferencia de la esclerosis sistémica, en la EICH no se suele observar la progresión de distal a proximal. Otras entidades que pueden presentarse con induración cutánea son la fibrosis inducida por radiación y fibrosis sistémica nefrogénica (esta última debe ser considerada en pacientes con insuficiencia renal).

La poiquilodermia puede ocurrir en una variedad de desórdenes. La poiquilodermia de Civatte afecta los laterales del cuello de individuos de fototipo claro debido al daño solar crónico. Otras entidades que pueden presentar poiquilodermia son la dermatomiositis, el lupus sistémico y la poiquilodermia vascular atrófica en el contexto de linfomas cutáneos T (Quijano *et al*, 2001).

#### **1.2.7. Biomarcadores en el diagnóstico y pronóstico de la EICH**

En el momento de la concepción del presente proyecto de tesis doctoral, la investigación de biomarcadores para la EICH era muy incipiente, pero altamente inspiradora. La posibilidad de encontrar una herramienta potencialmente útil para la anticipación y precisión en el diagnóstico y el pronóstico de una complicación que causa una gran morbilidad y mortalidad en el alo-TPH, como es la EICH, inspiró a algunos grupos como el nuestro a abrir una línea de investigación en esta materia. La escasa evidencia científica disponible en 2015, cuando se concibió este proyecto de tesis, se limitaba a cinco estudios (Paczesny *et al*, 2009, 2010; Levine *et al*, 2015; Brüggén *et al*, 2015; Levine *et al*, 2012). principalmente liderados por el grupo de la Universidad de Michigan, que sugerían un papel de algunas proteínas plasmáticas para ser usadas como biomarcadores en la EICH. Entre estas proteínas, la elafina plasmática fue analizada en tres de estos estudios (Paczesny *et al*, 2009, 2010; Levine *et al*, 2012) y emergía como la principal candidata para ser usada como biomarcador específico de un órgano, la piel. Otro estudio también atribuía un papel pronóstico a la expresión epidérmica de elafina en las biopsias cutáneas de pacientes con EICH, pero reconocía la limitación de no discriminar entre la EICH aguda y las toxicodermias (Brüggén *et al*, 2015). Así pues, con esta escasa evidencia, decidimos incorporar la investigación de ambas, elafina plasmática y expresión tisular de elafina, al estudio prospectivo de la EICH que constituye el cuerpo de este proyecto de tesis. En el tiempo transcurrido desde entonces, se han hecho algunas aportaciones adicionales

en la literatura sobre el papel de la elafina como biomarcador en la EICH cutánea, que serán comentadas y contrastadas oportunamente con nuestros hallazgos en la Discusión.



## **2.HIPÓTESIS**



La EICH es la principal complicación y causa de morbimortalidad asociada al alo-TPH. Entre sus múltiples presentaciones, las manifestaciones cutáneas suelen ser las más frecuentes y precoces. Sin embargo, hoy no es posible distinguir la afectación cutánea de la EICH de otras dermatosis con clínica similar y algunos aspectos de la fisiopatología no son bien conocidos. Un conocimiento más preciso de las características clínicas, histológicas y biológicas de la EICH cutánea aguda y crónica, así como de la incidencia, de la eficacia de las medidas preventivas y terapéuticas, de los factores de riesgo de desarrollar esta complicación y de su pronóstico constituyen una necesidad no cubierta. Por ello, nos planteamos que un análisis detallado de los aspectos mencionados podría servir para un diagnóstico más precoz y certero de EICH y una mejor predicción del pronóstico, lo que permitiría adoptar medidas preventivas y terapéuticas potencialmente más eficaces.



### **3.OBJETIVOS**



El objetivo general de esta tesis es caracterizar la EICH cutánea aguda y crónica desde el punto de vista clínico, histológico y biológico en una serie de pacientes sometidos a alo-TPH entre octubre de 2015 y octubre 2017 en el Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia (HUIP La Fe). La intención última de dicha caracterización es profundizar en el conocimiento de las manifestaciones cutáneas y cambios biológicos con el fin de determinar factores predictores de la aparición EICH, así como de su gravedad y pronóstico. La identificación de estos factores puede servir de base para la implementación de medidas de diagnóstico precoz y terapéuticas más eficaces. Para ello, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Analizar la contribución relativa de la EICH a la mortalidad en pacientes sometidos a alo-TPH
2. Describir las manifestaciones clínicas de la EICH cutánea crónica y aguda.
  - a. Determinar la incidencia, tipo y grado de afectación clínica de la EICH cutánea según los distintos tipos de alo-TPH.
3. Describir las características histológicas de la EICH cutánea aguda y crónica.
  - a. Determinar el tipo y grado de afectación histológica de la EICH cutánea.
  - b. Correlacionar la gravedad clínica e histológica.
  - c. Valorar la utilidad de la biopsia cutánea en el diagnóstico diferencial con las toxicodermias.
4. Analizar la expresión de elafina cutánea en la EICH aguda y crónica.
  - a. Determinar la utilidad de la expresión de la elafina en el diagnóstico de la EICH cutánea.
  - b. Determinar la asociación de la expresión de elafina con otras características histológicas.
  - c. Determinar la utilidad de la expresión de elafina en la gravedad y pronóstico de la EICH.
  - d. Valorar la utilidad de la expresión de elafina en el diagnóstico diferencial con las toxicodermias.
5. Definir la utilidad de la elafina plasmática como biomarcador de EICH.

- a. Determinar la utilidad de la elafina plasmática en el diagnóstico y pronóstico de EICH aguda y crónica.
  - b. Determinar la utilidad de la elafina plasmática en el diagnóstico diferencial con las toxicodermias.
- 6. Caracterizar la reconstitución inmune pos-TPH
  - a. Estudiar distintas poblaciones linfocitarias en el primer año pos-TPH según el tipo de alo-TPH.
  - b. Correlacionar las poblaciones linfocitarias con el riesgo de EICH crónica, gravedad y pronóstico.



## **4.MATERIAL Y MÉTODOS**



#### 4.1. Pacientes y controles

Se incluyeron 126 pacientes adultos consecutivos con enfermedades hematológicas (neoplasias y anemia aplásica) que se sometieron a cualquier modalidad de alo-TPH en el Servicio de Hematología del HUIP La Fe desde el 1 de octubre de 2015 al 30 de septiembre de 2017 (Figura 4.1). El grupo control se conformó por 20 pacientes oncológicos no sometidos a TPH que desarrollaron una reacción de hipersensibilidad a fármacos caracterizada por un exantema máculopapular de al menos el 25% de la SCT, durante el mismo periodo y en el mismo hospital. Uno de los controles fue un paciente visitado de forma ambulatoria en las consultas externas del servicio de dermatología, el resto (19 pacientes) estaban ingresados en el Servicio de Oncología para tratamiento quimioterapéutico. Se incluyeron todos los pacientes y controles que dieron su consentimiento por escrito, redactado de acuerdo con las normas éticas requeridas por la declaración de Helsinki (Anexo 2 y Anexo 3). El plan de investigación fue aprobado por el comité ético del HUIP La Fe (Anexo 1).

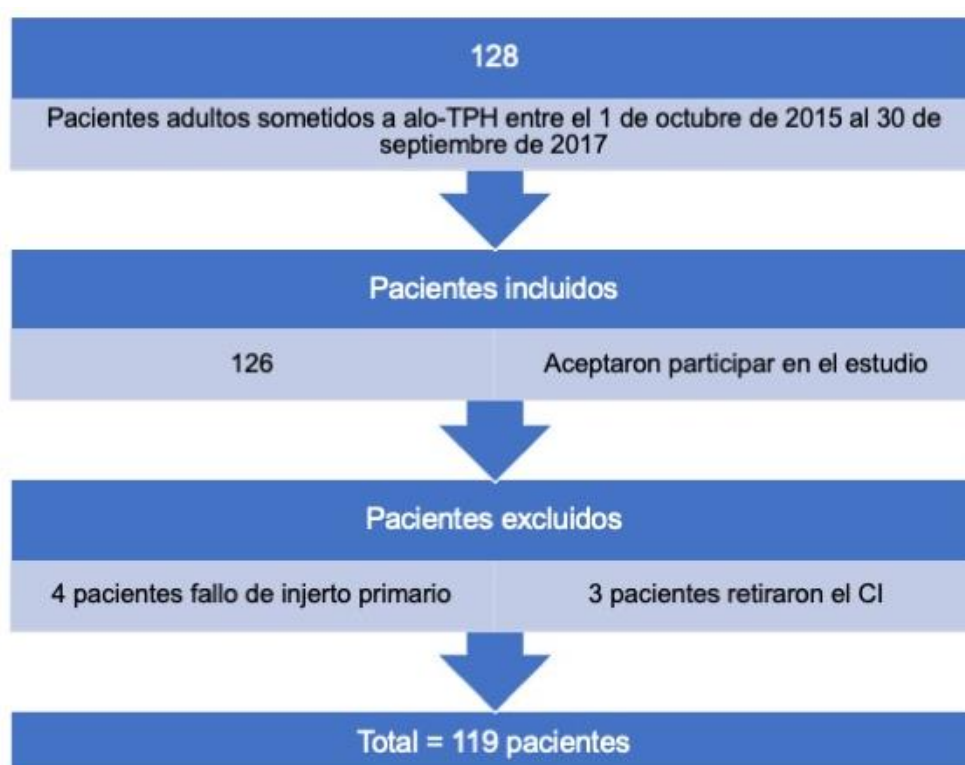


Figura 4.1. Pacientes sometidos a alo-TPH incluidos en el estudio.

CI: consentimiento informado.

#### 4.2. Seguimiento clínico

El seguimiento de los pacientes comenzó con una exploración dermatológica en las primeras 48 horas desde el ingreso antes de iniciar el régimen de acondicionamiento para el trasplante. Los pacientes se visitaron en la planta de trasplante hematológico con una frecuencia cada 48-72 horas durante el régimen de acondicionamiento y cada 24-48 horas una vez realizado el trasplante. En cada visita se realizó una exploración mucocutánea y se procedió a la toma de muestras si procedía. Ante la aparición de manifestaciones cutáneas que pudieran hacer sospechar los primeros signos de una EICH, los pacientes fueron valorados por un dermatólogo y se obtuvieron las muestras de sangre y piel correspondientes al momento de aparición de la clínica cutánea.

Después del alta hospitalaria, los pacientes continuaron el seguimiento por la Unidad de Trasplante Hematológico del HUIP La Fe. El seguimiento de las complicaciones cutáneas se realizó en las consultas externas del Servicio de Dermatología del mismo hospital de forma semanal el primer mes, luego al menos una consulta mensual hasta el día 100, y posteriormente en los días 180 y 365. Se realizaron consultas intermedias en los casos necesarios por aparición de síntomas cutáneos para valorar el diagnóstico de EICH, instaurar tratamiento dirigido a la piel y mucosas y valorar la respuesta a este.

El manejo de los fármacos inmunosupresores y el tratamiento de EICH extracutánea fue dirigido por hematólogos especializados en el seguimiento de pacientes trasplantados. Los tratamientos de EICH dirigidos a la piel o mucosas fueron pautados por el dermatólogo. Esta tesis recoge el seguimiento hasta 1 año pos-TPH, recaída o fallecimiento.

### **4.3. Recogida de muestras**

#### **4.3.1. *Obtención y preservación de muestras sanguíneas***

Las muestras de sangre periférica de los pacientes se obtuvieron en los momentos pre-TPH, y días 7, 14, 21, 28, 100, 180 y 365 pos-TPH y en el momento de la aparición de clínica cutánea de EICH. En el caso de los controles, se obtuvo solo 1 muestra de sangre periférica en 18 controles. Para la recolección se utilizaron 4 tubos con anticoagulante ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA). Se realizó el procesamiento antes de 3 horas para la obtención de 5 alícuotas de plasma y pellet celular en lisado Trizol®. Las muestras fueron criopreservadas a -80°C en el Biobanco La Fe. El intervalo entre la aparición de síntomas y la muestra de sangre periférica no fue superior a 7 días.

#### **4.3.2. *Obtención y preservación de muestras cutáneas***

Se obtuvo una muestra cutánea mediante una biopsia punch de entre 4 a 6 mm de piel bajo anestesia local de los pacientes en el momento de la aparición de manifestaciones cutáneas tanto de EICH aguda como crónica, y en los controles en el momento de aparición de la toxicodermia. Parte de la muestra se conservó en formol para el estudio histológico e inmunohistoquímico y otra parte se introdujo en un tubo de microcentrifuga Eppendorf™ que se sumergió inmediatamente en nitrógeno líquido para su criopreservación. Las muestras en formol se procesaron en el Laboratorio de Anatomía Patológica del HUIP La Fe según el protocolo habitual, mientras que las muestras en fresco fueron almacenadas a -80°C en el Biobanco La Fe.

#### 4.4. Estudios específicos

##### 4.4.1. Estudio de poblaciones linfocitarias en sangre periférica

Se obtuvieron de forma prospectiva muestras de sangre periférica de 119 pacientes sometidos a alo-TPH, recogidas en tubos EDTA en los días 100, 180 y 365 tras el TPH. Las poblaciones linfocitarias se caracterizaron mediante citometría de flujo de las muestras sanguíneas de menos de 24 horas en el Laboratorio de Citometría de Flujo de la Unidad de Diagnóstico Hematológico del HUIP La Fe.

##### 4.4.1.1. Estudio automatizado de poblaciones linfocitarias

Por una parte, se realizó un estudio automatizado de las poblaciones linfocitarias T, B y NK.

- **Procesamiento:** La preparación de las muestras y la dispensación de los anticuerpos monoclonales (AcMos) se realizó mediante el preparador automático Sample Prep Assistant II (Becton Dickinson, San José, CA, USA). Se utilizó el reactivo BD Multitest 6-color TBNK (Becton Dickinson, San José, CA, USA). Este reactivo consiste en una mezcla de AcMos para la identificación de las diferentes poblaciones linfocitarias. El marcaje de la sangre periférica se realizó en una plataforma única empleando tubos TruCount que contienen un número conocido de microesferas liofilizadas que permite al equipo calcular el número absoluto de las células linfocitarias.

$$\frac{\left( \frac{\text{número de eventos de interés}}{\text{número de microesferas en el tubo}} \right)}{\left( \frac{\text{número de microesferas del lote}}{\mu\text{L muestra}} \right)}$$

La técnica automatizada consistió en marcar 50  $\mu\text{L}$  de sangre periférica con 20  $\mu\text{L}$  del reactivo que contiene una combinación de AcMos conjugados con los fluorocromos isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), proteína peridín clorofila con cianina 5.5 en tándem (PerCPCy5.5), ficoeritrina con cianina 7 en tándem (PECy7) y aloficocianina con cianina 7 (APCH7).

El reactivo BD Multitest 6-color TBNK consistía en una sola combinación de 6 AcMos con CD3-FITC, CD16/CD56-PE, CD45-PerCPCy5.5, CD4-PECy7, CD19-APC y CD8-APCH7 en un único tubo TruCount (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Estudio de poblaciones linfocitarias con el reactivo BD Multitest 6-color TBNK.

| FLC         | FITC | PE        | PerCPCy5.5 | PECy7 | APC  | APCH7 |
|-------------|------|-----------|------------|-------|------|-------|
| <b>AcMo</b> | CD3  | CD16/CD56 | CD45       | CD4   | CD19 | CD8   |

FLC: fluorocromo; AcMo: anticuerpo monoclonal; FITC: isotiocianato de fluoresceína; PE: ficoeritrina; PerCPCy5.5: proteína peridín clorofila con cianina 5.5 en tándem; ficoeritrina con cianina 7 en tándem; APC: alofocianina; APCH7: alofocianina con cianina 7.

La incubación con los AcMos se realizó durante 15 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente (TA). A continuación, los hematíes se lisaron con 450  $\mu$ L de solución FACSlysing (Becton Dickinson, San José, CA, USA) durante 15 minutos en las mismas condiciones. Tras este paso la muestra se transfirió al citómetro de flujo para su adquisición y análisis.

- **Adquisición de las muestras:** Las muestras fueron adquiridas en un citómetro de flujo FACSCanto-II con el programa BD FACSCanto versión 2.4 (Becton Dickinson, San José, CA, USA). El número de leucocitos adquiridos en cada muestra lo establecen de forma automática los programas de adquisición con el fin de asegurar un número adecuado de células para el análisis de la población linfoide.
- **Análisis de las muestras:** El análisis de los datos de citometría de las poblaciones linfocitarias marcadas con el reactivo BD Multitest 6-color TBNK se realizó mediante el programa clínico FACSCanto versión 2.4 (Becton Dickinson, San José, CA, USA), que realiza un análisis automatizado de las poblaciones linfocitarias, siendo necesario en algunos casos un reajuste manual de las regiones de selección. La suma de las principales poblaciones linfocitarias (T, B y NK) o linfosuma, tiene un valor establecido de 100 +/- 5.

Las células y las microesferas se representan en un diagrama de puntos de CD45 vs side scatter component (SSC), en el que se seleccionan los leucocitos y se eliminan las partículas inespecíficas de la muestra. Para la identificación de los linfocitos se utiliza la expresión intensa de CD45. Las células B se individualizan en un diagrama de puntos de CD19 vs SSC, mientras que un diagrama de CD3 vs SSC permite la discriminación de los

linfocitos T del resto de células linfocitarias. Por último, las células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> se identifican en un diagrama con CD4 vs CD8 y los linfocitos B y las células NK en otro de CD19 vs CD16/CD56. La enumeración de las microesferas se realiza utilizando el diagrama de CD19 vs SSC. Los resultados se obtuvieron tanto en porcentaje como en valor absoluto (células/  $\mu$ L).

#### 4.4.1.2. **Estudio de las subpoblaciones de linfocitos T, B y NK**

Por otra parte, se desarrolló un panel de AcMos conjugados con fluorocromos para el estudio de distintas poblaciones de linfocitos T, B y NK (Tabla 4.2). La identificación de los linfocitos T y B se realizó mediante la expresión de los antígenos CD3 y CD19, respectivamente. Las células NK se identificaron por la expresión de CD45 y la ausencia de expresión de CD3 y CD19. Dentro de la población de linfocitos T se estudió la expresión de los antígenos CD45RA, CD45RO, CTLA-4 (CD152) y PD-1 (CD279). La expresión de los antígenos CTLA-4 y PD-1 y también se cuantificó en los linfocitos B.

La expresión de los antígenos CD45RA y CD45RO se asocia con la diferenciación funcional de linfocitos T. El CD45RA se expresa en linfocitos T vírgenes, mientras que CD45RO se expresa en linfocitos T de memoria.

El antígeno CTLA-4 se expresa en la superficie de la mayoría de linfocitos T activados y no es detectable en los linfocitos T en reposo. Es la principal molécula inhibitoria implicada en la regulación negativa de la activación de los linfocitos regulando la tolerancia periférica y ejerciendo un control esencial para la autoinmunidad. También se ha demostrado la expresión de CTLA-4 en otro tipo de células incluyendo linfocitos B y granulocitos, aunque su función en estas células es desconocida. La molécula CTLA-4 es potencialmente un importante blanco terapéutico en el tratamiento de neoplasias, enfermedades autoinmunes y rechazo de trasplantes (Fernández-Ponce *et al*, 2006).

El antígeno PD-1 pertenece a la familia de receptores de coseñalización de tipo inhibidor. La interacción de PD-1 con sus ligandos, PD-L1 y PD-L2, desempeña una función fundamental en la regulación de la activación y tolerancia de los linfocitos T (Kitazawa *et al*, 2007). Así mismo, la vía de señalización PD-1 promueve la plasticidad en los linfocitos T, induciendo un fenotipo T regulador que perjudica la inmunidad celular. La inducción de células T a un fenotipo regulador es una vía potencial para bloquear la EICH (Amarnath *et al*, 2011).



**Procesamiento:** El procedimiento de marcaje de las muestras de sangre periférica para la detección de las diferentes poblaciones de linfocitos mediante citometría de flujo se detalla a continuación. Se identificaron correctamente los tubos de citometría de 12x75 mm con los AcMos. Se añadió el volumen apropiado de los AcMos a los tubos de citometría (Tabla 4.2). Se añadieron 100 µL de la muestra de sangre periférica a cada tubo y se agitó la mezcla en vórtex a 2000 rpm durante 5 segundos. Se incubó la muestra durante 15 minutos en oscuridad a TA. A continuación, se añadieron 2 mL de solución hemolizante FACSLysing Solution BD y se agitó en vórtex a 2000 rpm durante 5 segundos. Se incubó la muestra durante 10 minutos en oscuridad a TA. Se centrifugó la muestra 5 minutos a 2000 rpm. Se decantó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular en 2 mL de solución salina tampón fosfato (PBS). Se centrifugó 5 minutos a 2000 rpm. Se retiró de nuevo el sobrenadante con pipeta y se resuspendió el botón celular en 0,5 mL de PBS para su adquisición en el citómetro de flujo.

#### 4.4.1.3. **Estudio de células T reguladoras**

Además se caracterizaron las células Tregs que expresaban el factor de transcripción nuclear FoxP3 con el inmunofenotipo CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+alto</sup> FoxP3<sup>+</sup>.

- **Procesamiento:** Para la cuantificación de las células Tregs, el procedimiento de marcaje de las muestras utilizado fue el siguiente. Se identificaron los tubos de citometría de 12x75mm con los AcMos. Se prepararon las células mononucleares de sangre periférica diluyendo con BD Pharmingen Stain Buffer hasta alcanzar una concentración de  $1 \times 10^7$  células/mL. Se prepararon las soluciones a utilizar durante el protocolo. La solución A consistió de una mezcla 250 µL del buffer A y 2250 µL de agua destilada por muestra. La solución C se preparó con 490 µL de la solución A (anteriormente preparada) y 10 µL del buffer B por muestra. Se añadió el volumen apropiado de los AcMos de superficie a los tubos de citometría (20 µL de CD4-FITC y 20 µL de CD25-APC) (Tabla 4.2). Se añadieron 100 µL de la suspensión de células por tubo y se agitó en vórtex. Se incubó la muestra durante 20 minutos en oscuridad a TA. A continuación, se añadieron 2 mL de BD Pharmingen Stain Buffer y se centrifugó a 1200 rpm durante 10 minutos. Se decantó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular en el volumen residual. Se añadieron 2 mL de la solución A para fijar las células. Se agitó en vórtex y se incubó en oscuridad 10 minutos a TA. Se centrifugó la muestra 5 minutos a 1700 rpm. Se retiró el sobrenadante con pipeta y se resuspendió el botón celular en 2 mL de BD Pharmingen Stain Buffer. Se centrifugó la muestra a 1700 rpm durante 5

minutos y se decantó el sobrenadante. Se resuspendió el botón celular en el volumen residual. Para permeabilizar la células se añadieron 500  $\mu$ L de la solución C y se agitó en vórtex. Se incubó 30 minutos en oscuridad a TA. Se resuspendió el botón celular en 2 mL de BD Pharmingen Stain Buffer y se centrifugó a 1700 rpm durante 5 minutos. Se retiró el sobrenadante y se volvió a suspender en 2 mL de BD Pharmingen Stain Buffer y se centrifugó 5 minutos a 1700 rpm. Se decantó el sobrenadante y se añadieron 20  $\mu$ L del AcMo FoxP3-PE (Tabla 4.2) resuspendiendo el botón celular suavemente. Se incubó la mezcla 30 minutos en oscuridad. A continuación, se resuspendió el botón celular en 2 mL de BD Pharmingen Stain Buffer y se centrifugó a 1700 rpm durante 5 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular en 500  $\mu$ L de BD Pharmingen Stain Buffer para su adquisición en el citómetro de flujo.

- **Adquisición de las muestras:** Las muestras se adquirieron en un citómetro de flujo BD FACSCanto-II™ (Becton Dickinson, San Jose, CA, EEUU) utilizando el programa FACSDiva versión 8 a velocidad media para evitar la formación de dobletes. En el tubo para la caracterización de las poblaciones linfocitarias se adquirieron 200.000 células. En el tubo para la cuantificación de células Tregs se adquirieron al menos 15.000 células T CD4<sup>+</sup>. En los casos en los que la muestra fue hipocelular se agotó el volumen de la muestra del tubo de citometría.

Tabla 4.2. Panel de anticuerpos monoclonales y fluorocromos empleados para la identificación de las diferentes poblaciones de linfocitos.

|             | Tubo 1 |            |           | Tubo 2 |            |           |
|-------------|--------|------------|-----------|--------|------------|-----------|
| Fluorocromo | AcMo   | Fabricante | Vol. (μL) | AcMo   | Fabricante | Vol. (μL) |
| BV421       | CD3    | BD         | 5         |        |            |           |
| HV500       | CD45   | BD         | 5         |        |            |           |
| FITC        | PD-1   | Miltenyi   | 5         | CD4    | BD         | 20        |
| PE          | CTLA-4 | BD         | 5         | FoxP3  | BD         | 20        |
| PECy7       | CD45RO | BD         | 10        |        |            |           |
| APC         | CD45RA | BD         | 10        | CD25   | BD         | 20        |
| APCH7       | CD19   | BD         | 5         |        |            |           |

CAcMo: anticuerpo monoclonal, BV421: violeta brillante 421, HV500: horizon violeta 500, FITC: isotiocianato de fluoresceína, PE: ficoeritrina, PECy7: ficoeritrina con cianina 7 en tándem, APC: alofococianina, APCH7: alofococianina con cianina 7 en tándem. BD: Becton Dickinson.

- **Análisis de las muestras tubo 1 y tubo 2:** El análisis de las poblaciones linfocitarias se realizó utilizando el programa Infinicyt™ v1.8 (Cytognos; Salamanca, España). Los resultados se obtuvieron tanto en porcentaje sobre la celularidad total (CT), sobre la población linfoide (PL), la población linfoide T (PLT) o la población linfoide B (PLB), así como en células/μL. Para el cálculo de las células/μL se utilizó el valor absoluto de los leucocitos obtenido en el hemograma.

La estrategia empleada para el análisis de los datos de citometría del tubo 1 consistió en identificar las poblaciones de linfocitos T y B según la expresión de CD3 y CD19, respectivamente. El análisis se inicia eliminando los restos celulares o *debris* en el diagrama de puntos de FSC vs SSC, los dobletes en el diagrama de forward scatter component-height (FSC-H) vs forward scatter component-area (FSC-A) y las células que no expresan CD45 en el diagrama de CD45 vs SSC. A continuación se seleccionan los linfocitos T en el diagrama de CD3 vs SSC, los cuales no deben expresar CD19 y deben expresar CD45++. Los linfocitos B se clasifican como CD19+ CD3- y CD45++. Por último, las células NK, para las cuales no disponemos de marcador específico en este tubo, pueden seleccionarse como CD45++, CD3-, CD19-. El

porcentajes de positividad de los antígenos CD45RA, CD45RO, PD-1 y CTLA-4 en las poblaciones de linfocitos T y B se determina tomando como punto de corte la población de los neutrófilos presentes en la muestra.

El análisis del tubo 2 se llevó a cabo descartando en primer lugar los restos celulares en el diagrama de puntos de (forward scatter component) FSC vs SSC y los dobletes en el diagrama de FSC-H vs FSC-A. A continuación se identificaron los linfocitos T CD4<sup>+</sup>, de éstos se seleccionaron los que presentaban simultáneamente una alta expresión del antígeno CD25 y positividad para FoxP3.

#### 4.4.2. Determinación de elafina plasmática

La determinación de los niveles plasmáticos de elafina se realizó mediante un inmunoensayo tipo Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) tipo sándwich. Se emplearon entre 8 y 10 µl de plasma de 119 pacientes sometidos a alo-TPH y de 18 pacientes con toxicodermias (controles) para la determinación de la elafina con el kit DuoSet® ELISA (número de catálogo: DY1747, R&D Systems, Abingdon, UK). El ELISA tipo sándwich consiste en que el antígeno (elafina) queda inmovilizado entre dos anticuerpos, uno de captura (capture anticuerpo) y otro de detección (biotina con anticuerpo), que se unen a dos epítomos distintos del mismo antígeno (elafina), como se muestra en la Figura 4.2.

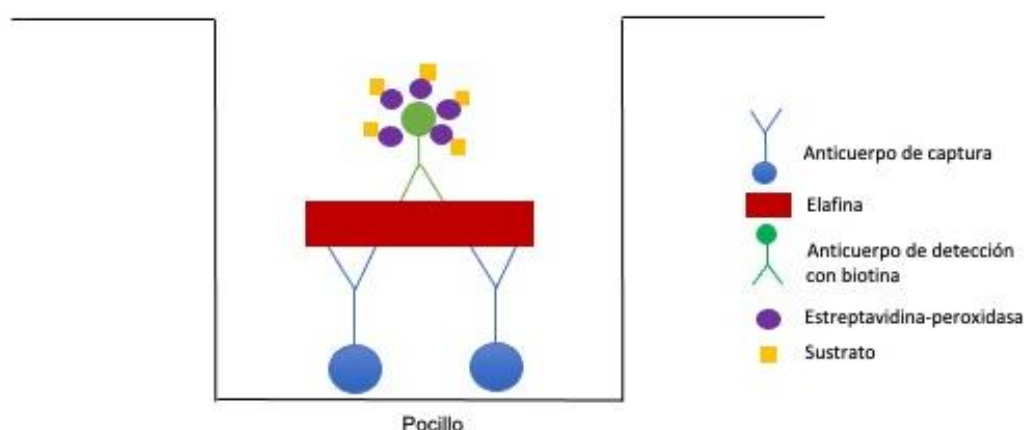


Figura 4.2. Esquema del inmunoensayo ELISA tipo sándwich para la detección de elafina plasmática.

Brevemente, el procedimiento consiste en inmovilizar el anticuerpo de captura en la placa el día anterior. A continuación, se añade el plasma diluido 1:20 que se unirá al anticuerpo de captura durante una hora de incubación. Tras eliminar el anticuerpo no unido, se añade el anticuerpo de detección conjugado con biotina durante dos horas que se unirá a la elafina unida al anticuerpo de captura. Para amplificar la señal se conjuga el anticuerpo con biotina que formará complejos con la estreptavidina. Tras eliminar el anticuerpo biotinalado no unido, se añade estreptavidina unida a la enzima peroxidasa (HRP) durante 20 minutos. Tras eliminar la estreptavidina-HRP no unida, se incuba con un sustrato de HRP, tetrametilbencidina (TMB), que formará un compuesto coloreado azul que cambia de color a amarillo al añadir un ácido (

Figura 4.3). Finalmente, la señal coloreada se mide a 450nm en un espectrofotómetro. Se emplea una curva estándar de elafina (0-2000 pg/mL) que se emplea para extrapolar los valores de concentración de las muestras de plasma.

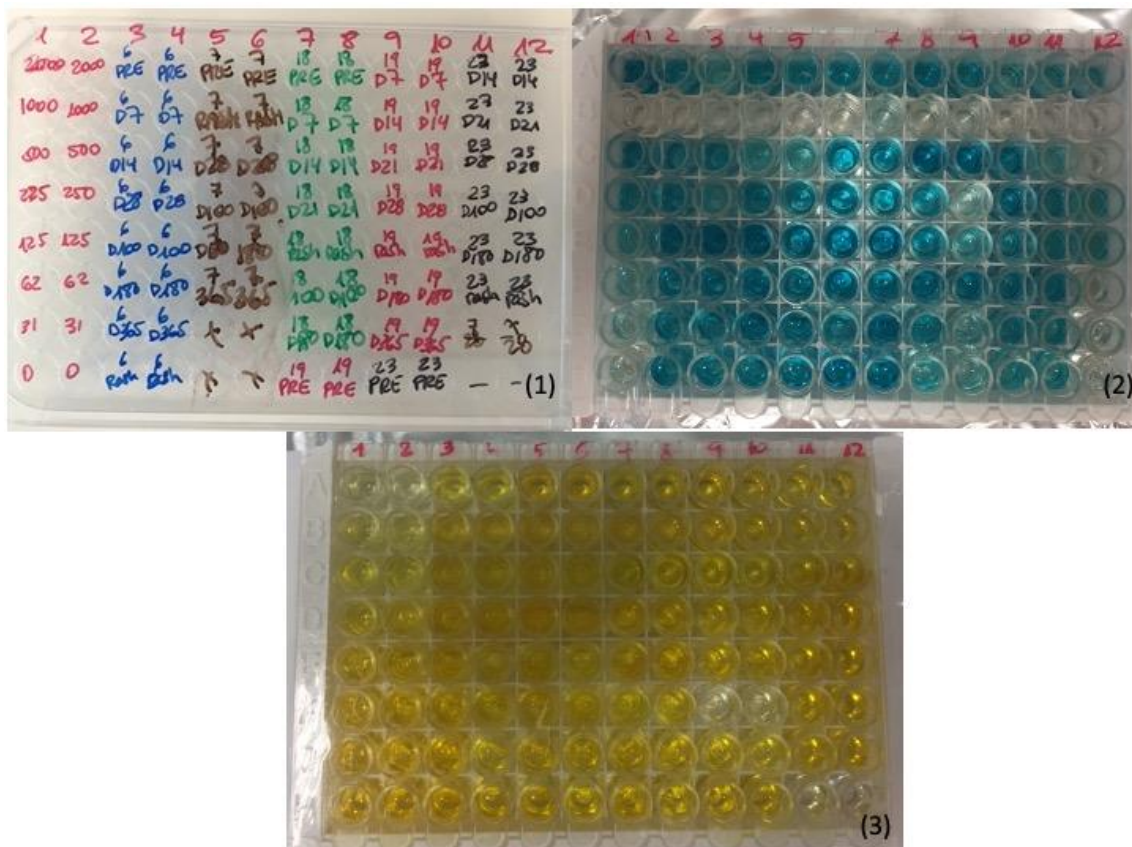


Figura 4.3. Inmunoensayo ELISA para detección de elafina plasmática.

(1) Identificación de la microplaca de 96 pocillos. (2) Color azulado al añadir el sustrato cromogénico de la peroxidasa y (3) Color amarillento al añadir ácido para detener la reacción.

Se procesaron todas las muestras de un mismo paciente a la vez (correspondientes a los momentos pre-TPH; días 7, 14, 21, 28, 100, 180, 365 pos-TPH; y en el momento de la clínica cutánea de EICH). El procesamiento del plasma de los pacientes del grupo control se realizó con el mismo protocolo. Se realizaron dos determinaciones por cada muestra, utilizando la media como el valor definitivo. Los resultados se expresaron como valor absoluto en pg/ml y de forma relativa como porcentaje de cambio respecto a la muestra “pre-TPH”. Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Biomedicina Molecular, Celular y Genómica del Instituto de Investigación Sanitaria la Fe (IIS la Fe).

#### **4.4.3. Estudio histológico de las biopsias cutáneas**

##### **4.4.3.1. Hematoxilina-Eosina**

Se obtuvieron 78 biopsias de pacientes que desarrollaron clínica cutánea de EICH y 20 biopsias de pacientes no sometidos a trasplante que desarrollaron toxicodermias (controles). Las biopsias cutáneas fueron procesadas según el protocolo estándar del Servicio de Anatomía Patológica del HUIP La Fe. En los cortes de parafina teñidos con hematoxilina-eosina se evaluaron un gran número de variables histológicas relevantes para el diagnóstico de EICH (Lehman *et al*, 2014; Hillen *et al*, 2015). Estas se clasificaron en cambios de la epidermis, de la dermis superficial y profunda, del tejido celular subcutáneo y de los anejos cutáneos que se resumen en varias tablas a continuación (Tabla 4.3, Tabla 4.4, Tabla 4.5, Tabla 4.6, Tabla 4.7, Tabla 4.8).

Las biopsias fueron valoradas de forma ciega por un patólogo. El patrón histológico predominante se definió como interfase vascular, interfase liquenoide, interfase folicular, dermatitis esclerosante, paniculitis, fascitis (Tabla 4.9). La definición de los grados histológicos se muestra en la Tabla 4.10.

Tabla 4.3. Variables evaluadas en la epidermis.

| Epidermis                  | Valoración                                     |
|----------------------------|------------------------------------------------|
| Grosor                     | Normal / Atrófico / Acantosis                  |
| Hiperqueratosis            | Sí / No                                        |
| Paraqueratosis             | No / Focal / Extenso                           |
| Vacuolización basal        | No / Focal / Extenso / Hendidura subepidérmica |
| Queratinocitos apoptóticos | Ninguno / 1/10x / > 1/10x                      |
| Localización apoptosis     | Basal / Media / Alta                           |
| Espongiosis                | No / Focal / Moderada / Abundante              |
| Queratinocitos atípicos    | Sí / No                                        |
| Exocitosis:                |                                                |
| Linfocitos                 | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Células plasmáticas        | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Eosinófilos                | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Neutrófilos                | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Mastocitos                 | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Engrosamiento lámina basal | Sí / No                                        |

Tabla 4.4. Variables evaluadas en la dermis papilar.

| Dermis papilar        | Valoración                         |
|-----------------------|------------------------------------|
| Elastosis solar       | Sí / No                            |
| Esclerosis colágena   | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| Melanófagos           | Sí / No                            |
| Inflamación           | No / Localizada / Generalizada     |
| Células inflamatorias |                                    |
| Linfocitos            | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| Células plasmáticas   | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| Eosinófilos           | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| Neutrófilos           | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| Mastocitos            | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| Distribución          |                                    |
| Perivascular          | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| Perianexial           | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| Intersticial          | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| En banda              | No / Escaso / Moderado / Abundante |



Tabla 4.5. Variables evaluadas en la dermis reticular.

| Dermis reticular             | Valoración                         |
|------------------------------|------------------------------------|
| <b>Esclerosis colágena</b>   |                                    |
| <b>Reticular superficial</b> | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Reticular profunda</b>    | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Aumento el espesor</b>    | Sí / No                            |
| <b>Engrosamiento fascia</b>  | Sí / No / No incluida              |
| <b>Inflamación</b>           | No / Localizada / Generalizada     |
| <b>Células inflamatorias</b> |                                    |
| <b>Linfocitos</b>            | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Células plasmáticas</b>   | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Eosinófilos</b>           | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Neutrófilos</b>           | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Mastocitos</b>            | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Distribución</b>          |                                    |
| <b>Perivascular</b>          | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Perianexial</b>           | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Intersticial</b>          | No / Escaso / Moderado / Abundante |

Tabla 4.6. Variables evaluadas en el tejido celular subcutáneo.

| Tejido celular subcutáneo     | Valoración                         |
|-------------------------------|------------------------------------|
| <b>Incluido en la muestra</b> | Sí / No                            |
| <b>Esclerosis colágena</b>    | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Inflamación</b>            | No / Localizada / Generalizada     |
| <b>Células inflamatorias</b>  |                                    |
| <b>Linfocitos</b>             | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Células plasmáticas</b>    | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Eosinófilos</b>            | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Neutrófilos</b>            | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Mastocitos</b>             | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Infiltrado</b>             |                                    |
| <b>Septal</b>                 | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Lobulillar</b>             | No / Escaso / Moderado / Abundante |
| <b>Mixta</b>                  | No / Escaso / Moderado / Abundante |



Tabla 4.7. Variables evaluadas en el epitelio folicular.

| Epitelio folicular     | Valoración                                     |
|------------------------|------------------------------------------------|
| Incluido en la muestra | Sí / No                                        |
| Vacuolización basal    | No / Focal / Extenso / Hendidura subepidérmica |
| Apoptosis              | No / Escaso / Disperso / Abundante             |
| Exocitosis:            |                                                |
| Linfocitos             | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Células plasmáticas    | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Eosinófilos            | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Neutrófilos            | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Mastocitos             | No / Escaso / Moderado / Abundante             |

Tabla 4.8. Variables evaluadas en el epitelio de las glándulas ecrinas.

| Epitelio de las glándulas ecrinas | Valoración                                     |
|-----------------------------------|------------------------------------------------|
| Incluido en la muestra            | Sí / No                                        |
| Vacuolización basal               | No / Focal / Extenso / Hendidura subepidérmica |
| Apoptosis                         | No / Escaso / Disperso / Abundante             |
| Exocitosis:                       |                                                |
| Linfocitos                        | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Células plasmáticas               | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Eosinófilos                       | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Neutrófilos                       | No / Escaso / Moderado / Abundante             |
| Mastocitos                        | No / Escaso / Moderado / Abundante             |

Tabla 4.9. Patrón histológico predominante.

| Patrón predominante     |
|-------------------------|
| Interfase vacuolar      |
| Interfase liquenoide    |
| Interfase folicular     |
| Dermatitis esclerosante |
| Paniculitis             |
| Fascitis                |
| Inespecífico            |

Tabla 4.10. Definición de los grados histológicos.

| Grados         | Valoración                                          |
|----------------|-----------------------------------------------------|
| <b>Grado 1</b> | Degeneración vacuolar basal                         |
| <b>Grado 2</b> | Grado 1 + necrosis epidérmica / cuerpos eosinófilos |
| <b>Grado 3</b> | Grado 2 + separación dermoepidérmica                |
| <b>Grado 4</b> | Despegamiento extenso                               |

#### 4.4.3.2. Inmunohistoquímica

La caracterización del infiltrado inflamatorio se realizó mediante inmunohistoquímica con AcMos para linfocitos T (CD3, CD4 y CD8), linfocito B (CD20) y linfocitos Tregs (FoxP3). Además, se evaluó la expresión de marcadores de citotoxicidad: granzima B y T-cell intracelular antigen 1 (TIA-1). Granzima B es la serina proteasa más abundante almacenada en gránulos secretores de los linfocitos T citotóxicos y en las células NK. La muerte celular inducida por la granzima B es un mecanismo para eliminar células diana dañinas, incluidas células alogénicas, infectadas por virus y tumorales (Kircher *et al*, 2009). El TIA-1 también se encuentra en los gránulos citotóxicos por lo que la tinción muestra un patrón granular en el citoplasma. Este antígeno está involucrado en la respuesta inmune citotóxica y se expresa en linfocitos citotóxicos, NK y granulocitos (Jerome *et al*, 1998). Por otro lado, se evaluó la expresión de intercelular adhesion molecule 1 (ICAM-1). Esta es una proteína transmembrana presente en los leucocitos y células endoteliales. Mediante la unión de ICAM-1 a su ligando lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1), una integrina presente en los leucocitos, se produce la extravasación y migración de las células inflamatorias a los tejidos (Tang *et al*, 2018). La expresión de todos estos antígenos se valoró utilizando un método semicuantitativo combinando la positividad (Tabla 4.11) y el porcentaje de células positivas.

Tabla 4.11. Caracterización del infiltrado inflamatorio mediante inmunohistoquímica.

| Subpoblación de linfocitos                                     | Marcador          | Valoración                |
|----------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------------|
| <b>Linfocitos B</b>                                            | <b>CD20</b>       | + / - (% del infiltrado)  |
| <b>Linfocitos T</b><br><b>T helper</b><br><b>T citotóxicos</b> | <b>CD3</b>        | + / - (% del infiltrado)  |
|                                                                | <b>CD4</b>        | + / - (% de linfocitos T) |
|                                                                | <b>CD8</b>        | + / - (% de linfocitos T) |
| <b>Linfocitos Tregs</b>                                        | <b>FoxP3</b>      | + / - (% del infiltrado)  |
| <b>Expresión gránulos citotóxicos</b>                          | <b>Granzima B</b> | + / - (% del infiltrado)  |
|                                                                | <b>TIA-1</b>      | + / - (% del infiltrado)  |
| <b>Moléculas de adhesión</b>                                   | <b>ICAM-1</b>     | + / - (% del infiltrado)  |

Tregs: células T reguladoras; TIA-1: T-cell intracellular antigen 1; ICAM-1: Intercellular adhesion molecule 1.

#### 4.4.3.3. Expresión de elafina

Se utilizó el AcMo murino elafin (H-2) (número de catálogo sc-398075; Santa Cruz Biotechnology, Dallas, EEUU) dirigido contra los aminoácidos 1-117 que representan la longitud completa de la elafina humana.

Se caracterizó la expresión de la elafina en las biopsias de los casos y controles según el patrón e intensidad de la tinción en la epidermis en general y a nivel de la capa granulosa como se detalla en las siguientes tablas (Tabla 4.12, Tabla 4.13, Tabla 4.14).

Tabla 4.12. Parámetros valorados en la expresión de elafina en las biopsias cutáneas.

|                       | Parámetro         | Expresión de elafina       |
|-----------------------|-------------------|----------------------------|
| <b>Epidermis</b>      | <b>Grosor</b>     | Parcial / Total / NV       |
|                       | <b>Intensidad</b> | - / + / ++ / +++ / NV      |
|                       | <b>Patrón</b>     | Homogéneo / Parcheado / NV |
| <b>Capa granulosa</b> | <b>Intensidad</b> | - / + / ++ / +++ / NV      |
|                       | <b>Patrón</b>     | Homogéneo / Parcheado / NV |

NV: no valorable.

Tabla 4.13. Caracterización de la expresión de elafina en la epidermis.

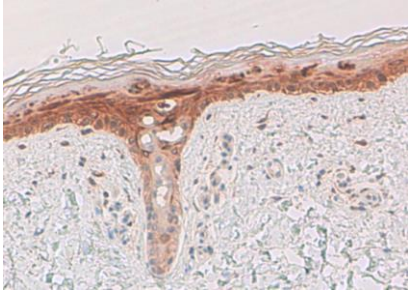
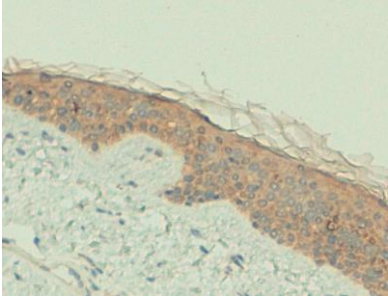
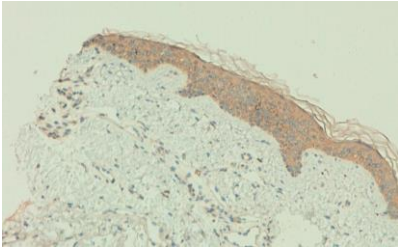
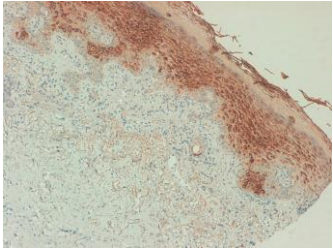
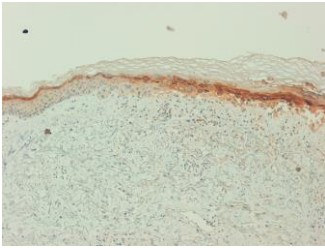
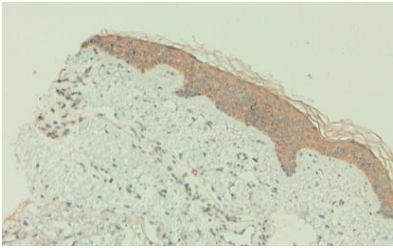
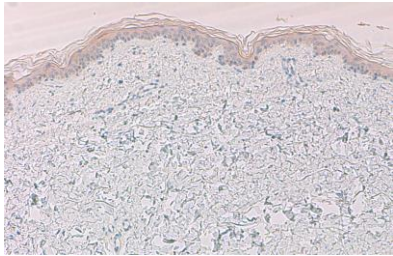
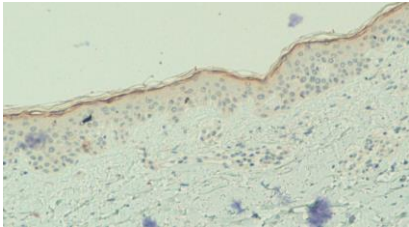
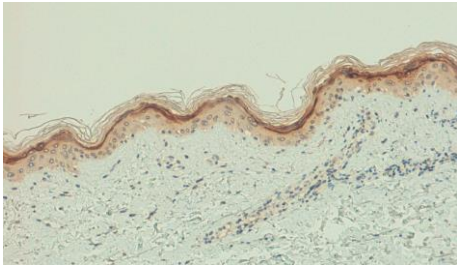
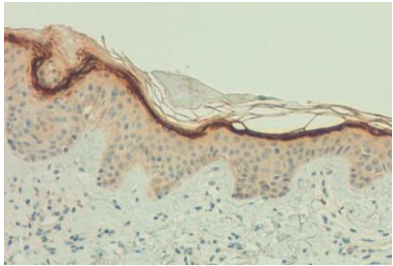
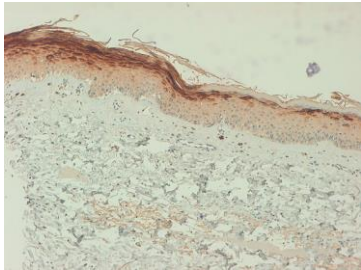
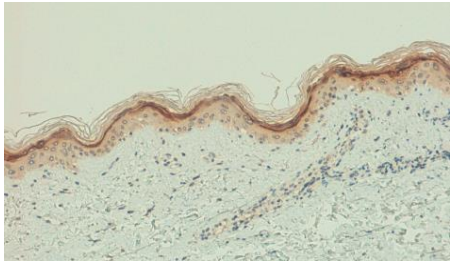
|            | Epidermis                                                                           |                                                                                      |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|            | Parcial                                                                             | Total                                                                                |
| Grosor     |    |    |
| Intensidad | -                                                                                   | +                                                                                    |
|            | ++                                                                                  | +++                                                                                  |
|            |  |  |
| Patrón     | Parcheado                                                                           | Homogéneo                                                                            |
|            |  |  |

Tabla 4.14. Caracterización de la expresión de elafina en la capa granulosa.

|                   | <b>Granulosa</b>                                                                    |                                                                                      |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Intensidad</b> | -                                                                                   | +                                                                                    |
|                   |    |    |
|                   | ++                                                                                  | +++                                                                                  |
|                   |   |   |
| <b>Patrón</b>     | <b>Parcheado</b>                                                                    | <b>Homogéneo</b>                                                                     |
|                   |  |  |

#### 4.5. Procedimientos del TPH

##### 4.5.1. Tipo de trasplante y esquemas de acondicionamiento

La indicación definitiva del TPH y la elección de la modalidad, así como de la fuente de progenitores hematopoyéticos y la intensidad del acondicionamiento se decidieron de forma consensuada en una sesión específica semanal concebida para este fin. En esta sesión se hace una descripción pormenorizada de las circunstancias clínicas que concurren en cada caso y que justifican la indicación de un TPH, así como la información sobre potenciales donantes y la urgencia requerida para la realización del procedimiento. En la Figura 4.4 se muestra un diagrama de flujo con los pasos que se siguen en el proceso para la realización de un TPH.

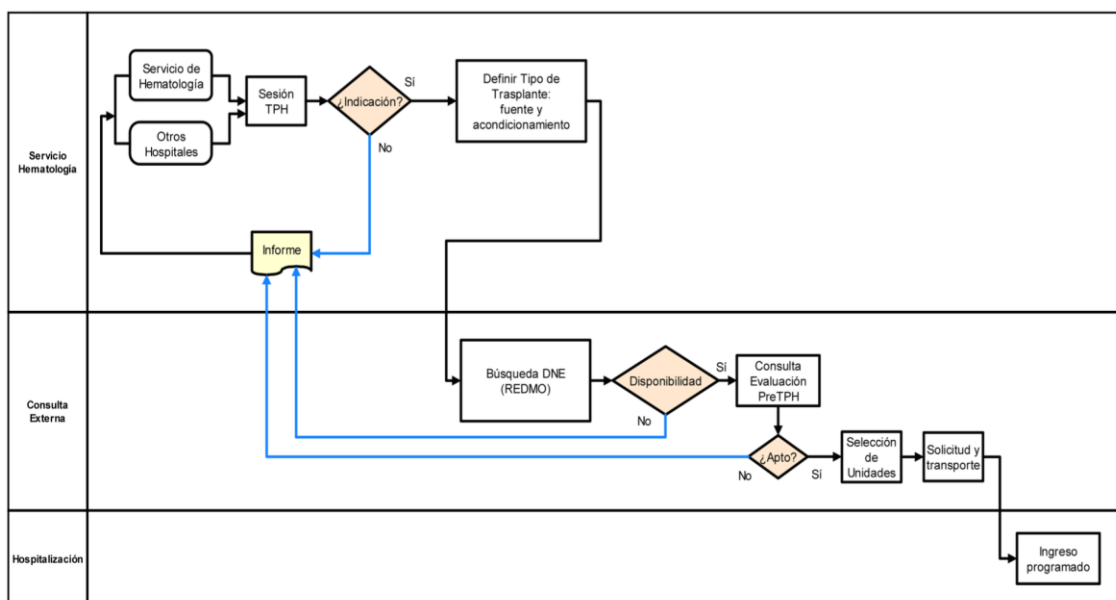


Figura 4.4. Proceso para la realización de un TPH.

El esquema de acondicionamiento fue elegido de acuerdo con los protocolos institucionales, en función del tipo de alo-TPH, la edad del paciente, las comorbilidades y la enfermedad subyacente. Los esquemas de acondicionamiento fueron AMA, con una intensidad convencional, o AIR. La intensidad del régimen de acondicionamiento dependió de la enfermedad, el estado funcional y las comorbilidades del paciente, de acuerdo con los protocolos vigentes. Los regímenes de acondicionamiento para los pacientes sometidos a TSCU, TPH haploidéntico y de DNE consistieron en una combinación de tiotepa, busulfán, ciclofosfamida o fludarabina y ATG. Los trasplantes

de hermano HLA-idéntico, recibieron busulfán combinado con fludarabina o ciclofosfamida, o una combinación de melfalán con fludarabina (Tabla 4.15).

Tabla 4.15. Protocolos de régimen de acondicionamiento.

| Acondicionamiento según tipo de TPH |                                                         |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>Hermano HLA idéntico</b>         |                                                         |
| -                                   | Busulfán + Fludarabina                                  |
| -                                   | Busulfán + Ciclofosfamida                               |
| -                                   | Melfalán + Fludarabina                                  |
| <b>DNE / Haploidéntico / TSCU</b>   |                                                         |
| -                                   | Tiotepa + Busulfán + Ciclofosfamida o Fludarabina + ATG |

## 4.6. Enfermedad de injerto contra huésped

### 4.6.1. Diagnóstico y clasificación

Se utilizaron los criterios estándar para el diagnóstico y clasificación de la EICH aguda y crónica descritos con detalle en el apartado 1.2. En la Tabla 4.16 se muestran los criterios clínicos para el estadiaje de la EICH aguda cutánea, hepática e intestinal. El cálculo de la superficie se realizó empleando la regla de los nueves para adultos: cabeza 9%, brazos 18% (4,5% para la cara anterior y posterior de cada brazo), torso 36% (9% tórax anterior, 9% tórax posterior 9% abdomen anterior, 9% abdomen posterior), piernas 36% (4,5% para cada sección antero-superior, antero-inferior, postero-superior, postero-inferior de cada pierna). La palma de la mano representa el 1% de la SCT.

Tabla 4.16. Estadio clínico de la EICH aguda.

| Estadio  | Piel<br>(Exantema máculopapular)             | Hígado<br>(Bilirrubina) | Intestino<br>(Diarrea)                                       |
|----------|----------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>1</b> | < 25% SCT                                    | 2 – 3 mg/dl             | 500 – 1000 ml/d y/o<br>náuseas/vómitos persistentes          |
| <b>2</b> | 25 – 50% SCT                                 | 3,1 – 6 md/dl           | 1000 -1500 ml/d                                              |
| <b>3</b> | Eritrodermia generalizada                    | 6,1 – 15<br>mg/dl       | > 1500 ml/día                                                |
| <b>4</b> | Eritrodermia con ampollas y/o<br>descamación | > 15 mg/dl              | Hemorragia digestiva y/o íleo y/o<br>dolor abdominal intenso |

SCT: superficie corporal total.

En las Tabla 4.17 y Tabla 4.18 se recoge el grado de la EICH aguda en función de la clasificación de Glucksberg y del IBMTR respectivamente, como utilizados. (Glucksberg *et al*, 1974; Przepiorka *et al*, 1995; Rowlings *et al*, 1997).



Tabla 4.17. Grado de la EICH aguda según el índice de Glucksberg modificado.

| Grado      | Piel  |     | Intestino |     | Hígado |
|------------|-------|-----|-----------|-----|--------|
| <b>I</b>   | 1 – 2 | y   | 0         | y   | 0      |
| <b>II</b>  | 0 – 3 | y/o | 1         | y/o | 1      |
|            | 3     | y   | 0         | y   | 0      |
| <b>III</b> | 2 – 3 | y/o | 2 – 3     | y/o | 2 – 3  |
| <b>IV</b>  | 1 – 4 | y/o | 2 – 4     | y/o | 2 – 4  |

Tabla 4.18. Grado de la EICH aguda según el índice del IBMTR.

| Índice   | Piel<br>Exantema<br>máculopapular |              | Hígado<br>Bilirrubina (mg/dl) |       |        | Intestino<br>Diarrea (ml/día) |       |                                                |
|----------|-----------------------------------|--------------|-------------------------------|-------|--------|-------------------------------|-------|------------------------------------------------|
|          |                                   |              |                               |       |        |                               |       |                                                |
| <b>A</b> | 1                                 | < 25% SCT    | y                             | 0     | < 2    | y                             | 0     | < 500                                          |
| <b>B</b> | 2                                 | 25 – 50% SCT | y/o                           | 1 – 2 | 2 – 6  | y/o                           | 1 – 2 | 500 – 1500                                     |
| <b>C</b> | 3                                 | > 50% SCT    | y/o                           | 3     | 6 – 15 | y/o                           | 3     | >1500                                          |
| <b>D</b> | 4                                 | Ampollas     | y/o                           | 4     | > 15   | y/o                           | 4     | Dolor abdominal<br>severo o íleo<br>paralítico |

En la Tabla 4.19 y Tabla 4.20 se recoge la gradación clásica y la gradación del NIH de la EICH crónica (Filipovich *et al*, 2005; Jagasia *et al*, 2015).

Tabla 4.19. Gradación clásica de la EICH crónica.

| <b>EICH crónica limitada</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Afectación cutánea localizada, y/o</li> <li>- Disfunción hepática debida a EICH</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>EICH crónica extensa</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Afectación cutánea extensa, o</li> <li>- Afectación limitada de piel y/o hígado más alguno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Histología hepática con hepatitis crónica progresiva, puentes de necrosis o cirrosis</li> <li>▪ Afectación ocular con prueba de Schirmer &lt; 5 mm</li> <li>▪ Afectación de glándulas salivales menores o mucosa oral (demostrado por biopsia de la mucosa o labial)</li> <li>▪ Implicación de cualquier otro órgano diana.</li> </ul> </li> </ul> |

Tabla 4.20. Gradación del NIH de la EICH crónica.

| <b>EICH crónica leve</b>                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 o 2 órganos afectados sin deterioro funcional clínicamente significativo (grado máximo 1), y</li> <li>- Pulmón grado 0</li> </ul>                                                                                       |
| <b>EICH crónica moderada</b>                                                                                                                                                                                                                                       |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- 3 o más órganos sin deterioro funcional clínicamente significativo (grado máximo 1), o</li> <li>- Al menos un órgano (no pulmón) con deterioro funcional clínicamente significativo (grado 2) o pulmón grado 1</li> </ul> |
| <b>EICH crónica severa</b>                                                                                                                                                                                                                                         |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Al menos 1 órgano con deterioro funcional mayor (grado 3), o</li> <li>- Pulmón grados 2-3.</li> </ul>                                                                                                                     |

#### 4.6.2. Profilaxis de la EICH

Para la prevención de la EICH, la profilaxis fue distinta según el tipo de TPH realizado (Tabla 4.21). Los pacientes sometidos a TPH alogénico de hermano HLA idéntico recibieron CSA combinada con metotrexato (días +1, +3 y +6) excepto los pacientes con aplasia medular que recibieron depleción T *ex vivo* parcial seguido de CSA y prednisona. A los pacientes que recibieron un alo-TPH de DNE idéntico se les administró una combinación de CSA, metotrexato y ATG. Los pacientes sometidos a TSCU recibieron ciclosporina combinada con prednisona o MFM. Los pacientes que recibieron un trasplante haploidéntico recibieron o bien una depleción T *ex vivo* mediante selección CD34<sup>+</sup> sin profilaxis farmacológicas o una combinación de ciclofosfamida pos-TPH (CY-PT) con CSA y MFM.

Tabla 4.21. Profilaxis de la EICH.

| Profilaxis de la EICH                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TPH hermano HLA idéntico</b><br>- CSA + Metotrexato (+1, +3, +6)                      |
| <b>TPH DNE HLA idéntico</b><br>- CSA + Metotrexato + ATG                                 |
| <b>TSCU</b><br>- CSA (-1 a +90 y suspensión progresiva) + MFM o Prednisona               |
| <b>TPH haploidéntico</b><br>- Depleción T <i>ex vivo</i><br>- CF-PT (+3, +4) + CSA + MFM |

CSA: ciclosporina A; DNE: donante no emparentado; ATG: anti-timoglobulina; TSCU: trasplante de sangre de cordón umbilical; CY-PT: ciclofosfamida postrasplante; MFM: micofenolato mofetilo - : días antes del trasplante; + : días después del trasplante.

#### 4.6.3. Tratamiento de la EICH

Los pacientes que desarrollaron EICH aguda recibieron tratamiento de primera línea con metilprednisolona a dosis de 2 o 20 mg/kg/d seguido de un descenso gradual. La ATG se utilizó como tratamiento de segunda línea en aquellos pacientes refractarios a corticosteroides. Algunos de los no respondedores a primera línea con 2 mg/kg/día recibieron tratamiento de intensificación con 20 mg/kg/día. Además, los casos refractarios fueron sometidos a fotoaféresis extracorpórea. En la Tabla 4.22 y

Figura 4.5 se resume el tratamiento de la EICH aguda. Los pacientes que desarrollaron EICH crónica fueron tratados con prednisona 1 mg/kg/día.

Tabla 4.22. Tratamiento de la EICH aguda.

| Tratamiento de la EICH                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Primera línea:</b> metilprednisolona 2 mg/kg/día<br><b>Segunda línea:</b> ATG 1,25 mg/kg/día, a días alternos, 5-10 dosis<br><b>Tercera línea:</b> fotoaféresis extracorpórea<br><b>Cuarta línea:</b> intensificación metilprednisolona 10 mg/kg/día<br><b>Quinta línea:</b> infliximab semanal |
| Evaluar respuesta al 3º y 7º días → <b>si progresión a los 3 días o ausencia de respuesta a los 7 días → 2ª línea.</b>                                                                                                                                                                             |

ATG: anti-timoglobulina.

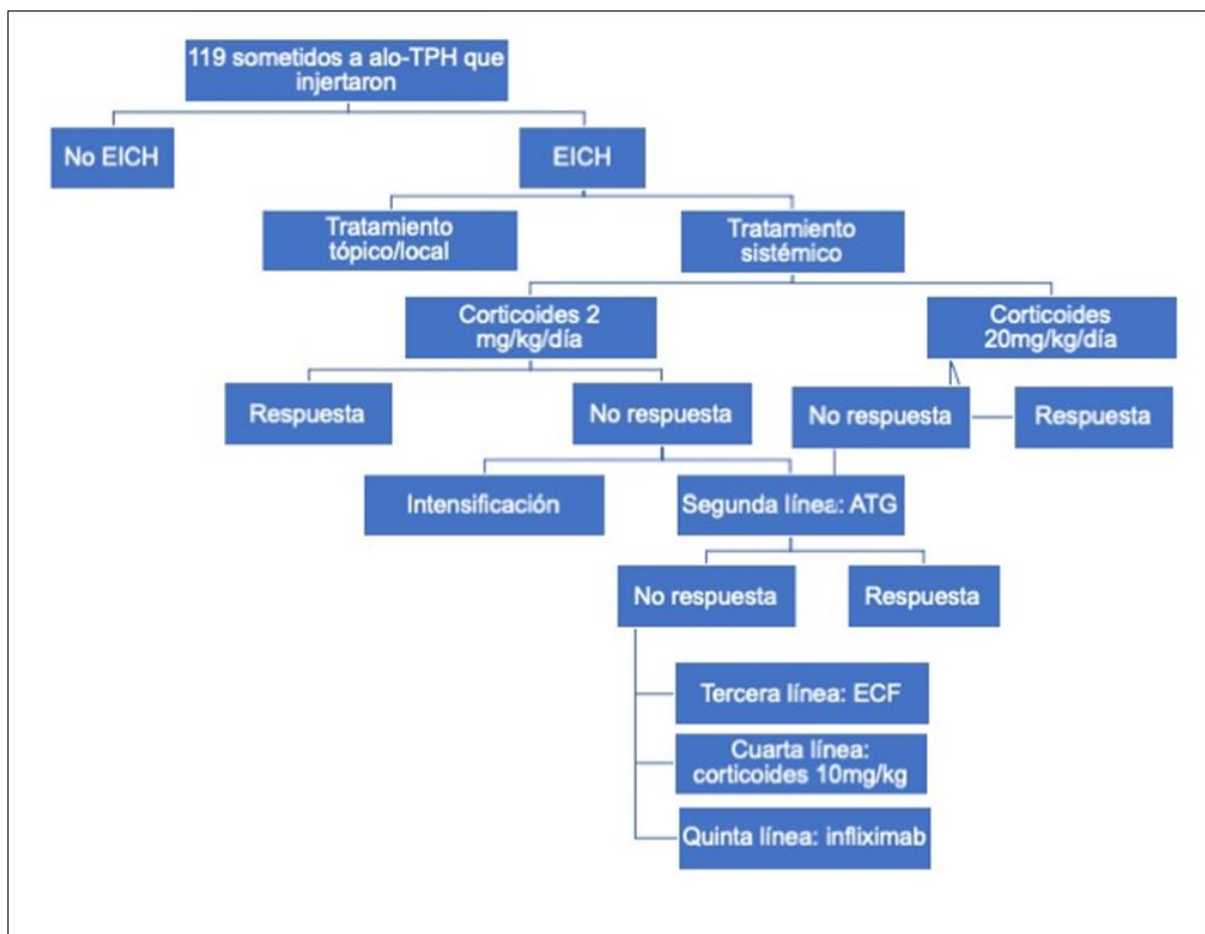


Figura 4.5. Algoritmo terapéutico de la EICH y las diferentes líneas de tratamiento.

ATG: anti-timoglobulina; ECF: fotoféresis extracorpórea.

#### 4.6.4. Cuidados de soporte

Las medidas de soporte siguieron las pautas institucionales descritas anteriormente (Sanz *et al*, 2015). Los pacientes fueron hospitalizados en habitaciones individuales con aire a presión positiva y filtros HEPA (high-efficiency particulate air) en régimen de aislamiento inverso. Todos los productos sanguíneos de soporte fueron leucorreducidos y se irradiaron.

Como profilaxis antifúngica se usó un azol (itraconazol, voriconazol) durante 6 meses después del TSCU, del alo-TPH de DNE y del TPH haploidéntico y mientras se usaban corticoides para el tratamiento de la EICH en el alo-TPH de hermano HLA idéntico. La profilaxis contra *Pneumocystis jiroveci* consistió en administrar cotrimoxazol dos días a la semana, que se mantuvo durante un mínimo de un año o hasta que se suspendió el tratamiento inmunosupresor. En caso de que el cotrimoxazol estuviera contraindicado, se usó pentamidina inhalada. Los pacientes seropositivos al CMV recibieron profilaxis, ya sea con ganciclovir intravenoso o con valganciclovir oral. Cuando se detectó una PCR positiva para CMV o una prueba de Ag pp65, se inició una terapia anticipada de primera línea con ganciclovir intravenoso 5 mg/kg dos veces al día o valganciclovir oral 900 mg dos veces al día. Estas y otras medidas preventivas y terapéuticas se muestran en varias tablas a continuación (Tabla 4.23, Tabla 4.24, Tabla 4.25, Tabla 4.26, Tabla 4.27).

Tabla 4.23. Medidas de profilaxis de las infecciones.

| Profilaxis                    | Fármacos y dosis utilizadas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Antibacteriana</b>         | <b>Ciprofloxacino</b> 500 mg/12h oral desde inicio de acondicionamiento hasta PMN >500/ $\mu$ L o hasta el inicio de antibioticoterapia IV.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Antifúngica</b>            | <b>Fluconazol</b> 100 mg/día oral o IV desde el inicio del acondicionamiento hasta el día 0; seguido de azol con cobertura hongo filamentoso ( <b>Itraconazol</b> 200 mg/día IV o <b>Voriconazol</b> 100-200 mg/12h oral o IV) desde el día +1 hasta injerto (3 días con PMN >500/ $\mu$ L) o inicio de antifúngicos IV.                                                                                                                                                                                                                                      |
|                               | <b>Voriconazol</b> 200 mg/12h oral o Itraconazol 200mg/día oral desde injerto y/o alta hasta el día +100 o +180, y/o si el paciente recibe más de 10 mg/día de prednisona como tratamiento de EICH.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Antifúngica secundaria</b> | Si IFI previa, <b>Ambisome</b> 1 mg/kg/día IV durante el acondicionamiento (si ambisome contraindicado, antifúngico de 2ª elección según valoración individual); <b>Voriconazol</b> 200 mg/12h oral o IV tras injerto mieloide (si voriconazol contraindicado, antifúngico de 2ª elección según valoración individual).                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Antiviral (CMV)</b>        | <b>Receptor CMV negativo:</b><br>– <b>Aciclovir</b> 250 mg/m <sup>2</sup> /12 h IV desde -5 hasta + 30; 400 mg/8h oral desde +30 hasta +180.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|                               | <b>Receptor CMV positivo</b><br>- <b>Alo-TPH emparentado HLA idéntico:</b><br><b>Aciclovir</b> 400 mg/m <sup>2</sup> /12h IV desde día -5 hasta PMN>1000/ $\mu$ L 3 días consecutivos.<br><b>Valganciclovir</b> 900 mg/día oral 3 veces a la semana desde prendimiento hasta día +90. Aciclovir 400mg/8h oral desde +90 hasta +180.<br>- <b>Alo-TPH no emparentado o no HLA idéntico:</b><br><b>Aciclovir</b> 500 mg/m <sup>2</sup> /8h IV desde día -5 hasta PMN>1000/ $\mu$ L 3 días consecutivos.<br><b>Valganciclovir</b> 900 mg/día oral hasta día +180. |
| <b>Pneumocystis jiroveci</b>  | <b>Cotrimoxazol</b> 160/800 mg/12h desde el ingreso hasta día -2.<br>Reiniciar a misma dosis 2 días por semana, desde PMN>1000/ $\mu$ L 3 días consecutivos hasta un año pos-trasplante, o hasta que la cifra de linfocitos CD4 <sup>+</sup> sea >400/ $\mu$ L, o hasta 3 meses después de retirar la inmunosupresión si esto ocurre más tarde. Ácido fólico 1 capsula dos días por semana.                                                                                                                                                                   |
| <b>M. tuberculosis</b>        | Realizar prueba de la tuberculina (Mantoux) antes del TPH. Repetirla ('booster') en un plazo de 7-10 días.<br>Si Mantoux $\geq$ 5 mm de diámetro, iniciar isoniazida (Cemidon-B6 300 mg) 300 mg/día durante 9 meses. No administrar durante el acondicionamiento de TPH. Debe monitorizarse función hepática dependiendo de medicación concomitante (ciclosporina, voriconazol, etc.), interacciones, toxicidades, etc.                                                                                                                                       |

IV: intravenoso; IFI: infección fúngica invasiva; CMV: citomegalovirus.

Tabla 4.24. Monitorización de las infecciones

| Monitorización        | Estrategia                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ag Aspergillus</b> | <b>3 veces por semana</b> si el paciente está ingresado; <b>1 vez por semana</b> si paciente ambulatorio pero neutropénico o con >10 mg/día de corticoides por EICH crónica.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>CMV</b>            | <p>Tanto si receptor negativo o positivo, monitorizar con PCR CMV en sangre <b>2 veces por semana</b> desde +7 a +120; desde +120 a +180 semanalmente si hay EICH y quincenalmente si no hay EICH.</p> <p><b>Si PCR positiva</b> (al menos 2 determinaciones entre 500 y 2500 copias o al menos 1 determinación con más de 2500 copias) → <b>tratamiento precoz de CMV con valganciclovir</b> 900mg/12h oral. Si síntomas atribuibles a enfermedad por CMV (disnea y/o neumonía; gastroenteritis; retinitis o encefalitis; pancitopenia y fiebre; cistitis), solicitar PCR CMV en sangre y pruebas diagnósticas correspondientes (Rx y/o TC de tórax y/o BAL con cultivo Shell-vial y PCR; endoscopia y biopsia intestinal con cultivo Shell-vial y PCR; oftalmoscopia, RNM cerebral y/o punción lumbar/humor acuoso con Shell-vial y PCR; aspirado medular con Shell-vial y PCR; orina con shell-vial).</p> |
| <b>VEB</b>            | <b>1 vez a la semana</b> desde el día +7 hasta +100, <b>cada 2 semanas</b> hasta +180 y <b>mensualmente</b> hasta el primer año. Si reactivación VEB, se solicitó TC de cuerpo entero junto con el resto de pruebas diagnósticas correspondientes según la clínica, con el objetivo de demostrar la proliferación linfoide mediante histología.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

Ag: antígeno; CMV: citomegalovirus; PCR: proteína C reactiva; Rx: radiografía simple; TC: tomografía computada; BAL: lavado bronquioalveolar.

Tabla 4.25. Medidas de tratamiento de las infecciones

| Tipo de infección          | Tratamiento                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Fiebre neutropénica</b> | <b>Meropenem 1 g/8h IV + Vancomicina 1 g/12h IV</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|                            | <b>Si alergia a <math>\beta</math>-lactámicos</b> → <b>Tigeciclina IV</b> (100 mg dosis de carga, seguido de 50 mg/12h) + <b>Amikacina IV</b> (15 mg/kg/24h). Si infección grave/shock séptico, añadir <b>Aztreonam 2 g/8h IV</b> .                                                                                                                                                                                             |
|                            | <b>Hemocultivos</b> de vía central y vena periférica antes de iniciar el antibiótico IV (aún en ausencia de fiebre) + urocultivo + radiografía de tórax. Buscar foco en la exploración física. Realizar frotis nasal y faríngeo semanal de vigilancia durante los ingresos (ver colonización por hongos filamentos, levaduras fluconazol resistentes, <i>S. aureus</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>S. Maltophilia</i> , etc.).  |
|                            | <b>Si foco infeccioso clínico</b> , aislamientos microbiológicos o 'shock' séptico → adaptar antibioticoterapia.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|                            | <b>Si fiebre persistente &gt; 2-3 días</b> → añadir glucopéptido (Vancomicina 1 g/12h IV) si el paciente no lo llevaba inicialmente. <b>En caso de nefrotoxicidad</b> , es preferible utilizar Teicoplanina o Linezolid (600 mg/12h IV) para cubrir gram positivos. <b>Retirar</b> el glucopéptido o Linezolid si no hay respuesta al antibiótico ni documentación de gram positivos tras 72 horas.                             |
|                            | <b>Si fiebre persistente &gt; 5-7 días</b> o recaída febril tras apirexia estable → Realizar TC de tórax y senos + solicitar Ag GM <i>Aspergillus</i> . <b>Añadir</b> antifúngico → <b>Caspofungina 50 mg/d IV</b> , con dosis de carga de 70 mg el primer día. En caso de insuficiencia hepática y/o renal, considerar <b>Anidulafungina IV</b> (dosis de carga 200 mg el primer día, seguida de 100 mg/24 h de mantenimiento) |
| <b>IFI</b>                 | <b>Si fiebre persistente prolongada sin documentación</b> a pesar de todas las medidas anteriores → Considerar rotación de <b><math>\beta</math>-lactámico</b> y/o adición de <b>Tigeciclina IV</b> (100 mg dosis de carga, seguido de 50 mg/12h).                                                                                                                                                                              |
|                            | <b>IFI posible:</b> monoterapia con antifúngico (usar el antifúngico que correspondería según escalada para fiebre neutropénica).                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>CMV</b>                 | <b>IFI probable o probada:</b> biterapia con antifúngicos (la elección de los antifúngicos a combinar se valorará individualmente para cada paciente).                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|                            | <b>Si PCR positiva</b> (>1 entre 500 y 2500 o $\geq 1$ con más de 2500 copias) → <b>Valganciclovir 900 mg/12h x 14-21 días</b> (y > 7 d con PCR negativa). Después, una vez al día x 14-21d (si no hay EICH) o hasta que el paciente acabe la pauta de profilaxis que le corresponda.                                                                                                                                           |
| <b>VEB</b>                 | <b>Si enfermedad por CMV</b> (documentada o sospechada grave) asociar <b>IGIV 500 mg/kg/48h</b> hasta resolución de los síntomas (o descartar enfermedad por CMV).                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                            | <b>Si PCR positiva</b> (> 900 copias/ml en 2 muestras consecutivas) o <b>SLPT-VEB</b> → las opciones terapéuticas consistieron en administrar rituximab en monoterapia, reducir la inmunosupresión y quimioinmunoterapia cuando fue posible.                                                                                                                                                                                    |

IV: intravenoso; Ag GM: antígeno galactomanano; IFI: infección fúngica invasiva; CMV: citomegalovirus; SLPT-VEB: síndrome linfoproliferativo pos-trasplante asociado a VEB.



Tabla 4.26. Medidas de soporte de la EICH

|                                        | Medidas                                                                                                                                     |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Afectación cutánea grados 3 - 4</b> | Cuidados de quemados por el Servicio de Cirugía Plástica                                                                                    |
| <b>Afectación intestinal</b>           | Dieta en función de la situación clínica<br>Nutrición parenteral<br>Ocreótid                                                                |
| <b>Medidas generales</b>               | Fisioterapia para reducir la atrofia muscular secundaria a la corticoterapia prolongada<br>Soporte nutricional supervisado por especialista |

Tabla 4.27. Otras medidas de soporte

| Medidas de soporte                        | Fármacos y dosis utilizadas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Indicaciones de G-CSF</b>              | <b>Filgrastim</b> desde el día + 7 hasta PMN >1000/μL durante 3 días consecutivos o leucocitos >10.000/μL un solo día.<br><br>Dosis: si superficie corporal <1,8 m <sup>2</sup> Filgrastim 30, 1 vial/24h subcutáneo; si superficie corporal ≥1,8m <sup>2</sup> Filgrastim 48, 1 vial/24h subcutáneo.                                                                                                                          |
|                                           | Administrar G-CSF a demanda en la fase pos-injerto para mantener PMN >1000-1500/μL (sobre todo si infección previa o concomitante).<br><br>Administrar G-CSF si PMN <1500/μL por toxicidad de valganciclovir o ganciclovir. Si PMN <500 → suspender valganciclovir o ganciclovir. Administrar foscarnet si toxicidad medular limitante que impida tratamiento precoz o de enfermedad por CMV con valganciclovir o ganciclovir. |
| <b>Náuseas y vómitos</b>                  | <b>Granisetron</b> : 3 mg IV cada 24 horas <b>solo los días en los que se administra la quimioterapia. Luego suspender.</b> Lorazepam 1 mg cada 8 horas oral como adyuvante si quimioterapia de alto poder emetógeno. Si a pesar de esta pauta no se controlan los vómitos, se añadirá dexametasona 4 mg IV antes de la quimioterapia pudiendo repetirse la dosis hasta un total de 4 mg/6 horas).                             |
| <b>Neurotoxicidad asociada a busulfán</b> | <b>Fenitoína</b> 100 mg/8 horas desde el día -7 al -1.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

G-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos; PMN: polimorfonucleares; CMV: citomegalovirus; IV: intravenoso.

## 4.7. Otras definiciones

### 4.7.1. Clasificación del estado de la enfermedad al trasplante

El estado de la enfermedad en el momento del trasplante se clasificó del siguiente modo:

- **Estadio precoz**: pacientes con leucemia aguda, linfoma o SMD en primera remisión completa (RC1), LMC en primera fase crónica y anemia refractaria no tratada.
- **Estadio intermedio**: pacientes con leucemia aguda, linfoma o SMD en segunda o superior remisión completa, LMC en segunda fase crónica o fase acelerada.
- **Estadio avanzado**: leucemia aguda y linfoma refractario o en recaída, LMC en crisis blástica y anemia refractaria con exceso de blastos (AREB) no tratada.

### 4.7.2. Injerto mieloide

Se definió como un recuento absoluto de neutrófilos (RAN) igual o superior a 500/ $\mu$ L en 3 días consecutivos. El tiempo para el injerto mieloide se midió teniendo en cuenta el tiempo requerido para alcanzar primer día del injerto mieloide.

### 4.7.3. Injerto plaquetar

Se definió como un recuento absoluto de plaquetas igual o superior a 20.000/ $\mu$ L sin requerir soporte de transfusiones en 7 días consecutivos. El tiempo para el injerto plaquetar es el tiempo hasta el primer día para alcanzar  $20 \times 10^9$ /L plaquetas.

#### **4.7.4.Fallo de injerto**

Se definió como fallo primario de injerto a la ausencia de injerto mieloide en los pacientes que sobrevivieron al menos 28 días después del trasplante. El fallo secundario de injerto se definió como la pérdida de un injerto.

#### **4.7.5.Respuesta al tratamiento de la EICH aguda**

La respuesta completa se definió como la resolución total de todo signo o síntoma de la EICH; la respuesta parcial, como el descenso en al menos un grado, pero sin la resolución completa del cuadro clínico; la enfermedad estable, como la ausencia de una mejoría suficiente para reducir el grado; y la progresión, como el aumento en al menos un grado. La respuesta fue valorada al día 3 y al final del tratamiento. La respuesta global al tratamiento (con corticoides sistémicos o con ATG) se definió como haber alcanzado una respuesta completa o si alcanzaba, al menos, una respuesta parcial con grado global  $\leq 2$ , sin requerir el uso de tratamiento inmunosupresor adicional. Los pacientes que no cumplían estos criterios se clasificaron como fallos de respuesta global al tratamiento. La EICH aguda refractaria a corticoides se definió como progresión al cabo de 3 días de tratamiento con corticoides o falta de mejoría tras una semana de tratamiento (Martin *et al*, 1990).

#### **4.7.6.Respuesta al tratamiento de la EICH crónica**

La respuesta completa se definió como la resolución de todas las manifestaciones de EICH crónica en todos los órganos, la respuesta parcial como mejoría en al menos un órgano, sin progresión en otros; la respuesta mixta como respuesta completa o parcial en un órgano acompañado de progresión en otro órgano; la enfermedad estable como la ausencia de criterios de respuesta completa, parcial, mixta o progresión; y la progresión como el aumento de un grado en algún órgano (Lee *et al*, 2015). La EICH corticodependiente se definió como la imposibilidad de suspender los corticoides. La necesidad de agregar otros inmunosupresores se consideró como ausencia de respuesta. La respuesta se valoró al mes y a los 100, 180 y 365 días pos-TPH. La respuesta duradera se definió como la ausencia de síntomas durante el periodo de observación tras la suspensión de todos los tratamientos sistémicos.

#### **4.8. Recolección, almacenamiento y gestión de los datos**

Los datos referentes a los pacientes sometidos a alo-TPH, así como los referentes a los detalles del procedimiento, las complicaciones, la evolución, los datos de los diferentes laboratorios y la aparición de manifestaciones de EICH se recogieron de manera prospectiva. La información fue sistemáticamente introducida y actualizada periódicamente en una base de datos (Microsoft Access, Microsoft Office®) creada para este propósito. Los datos de interés para el propósito de esta tesis fueron seleccionados mediante una consulta SQL y exportados a R para su análisis estadístico.

#### 4.9. Análisis estadístico

Las variables categóricas se expresaron en porcentajes y las variables continuas como medianas y extremos. Para la comparación de variables continuas, se usaron la prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney y la prueba de Kruskal-Wallis. Para la comparación de variables categóricas se utilizó la prueba de chi-cuadrado, con la corrección de Yates o la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario. Todos los valores de  $p$  fueron calculados usando “tests de dos colas”. En las variables continuas que fueron categorizadas, se usó el punto de corte más discriminante. Se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$ . Para la incidencia acumulativa, los puntos de corte que se probaron fueron el primer cuartil, la mediana y el tercer cuartil de cada variable continua. Para estimar la supervivencia con un intervalo del 95% se utilizó el método de Kaplan-Meier (Kaplan & Meier, 1958). y para las comparaciones, las pruebas de log-rank (Mantel, 1966). La probabilidad de EICH aguda y crónica, de mortalidad relacionada con el trasplante y de recaída se calcularon mediante el método de incidencia acumulativa (riesgo competitivo) (Fine *et al*, 1999; Gooley *et al*, 1999). Para el análisis de la incidencia acumulativa, se consideraron eventos competitivos los siguientes: a) para la EICH aguda, la muerte antes del día 100; b) para la EICH crónica, la muerte sin haber desarrollado EICH crónica; c) para la MSR, la recaída; y d) para la recaída, la muerte sin recaída previa. La EICH aguda y crónica fueron consideradas como variantes tiempo-dependientes. Para el análisis actuarial el mejor corte se estableció con el método “Maximally Selected Rank Statistics” de Hothorn (Hothorn & Lausen, 2003). Las variables con un valor de  $P < 0.1$  para cada “end point” fueron incluidas en el análisis multivariante usando el método de riesgo proporcional de Cox para eventos temporales (observaciones incompletas) (Cox & 1972, 1972) o el método de Fine & Gray para la incidencia acumulativa (Fine *et al*, 1999). El análisis estadístico se realizó usando el lenguaje y entorno de programación R versión 4.2.2.



## **5.RESULTADOS**





## 5.1. Descripción de la serie global y resultados del trasplante

### 5.1.1. Características de los pacientes

En la Tabla 5.1 se muestran las características basales de los 119 pacientes adultos con enfermedades hematológicas malignas que recibieron un alo-TPH en el HUIP La Fe entre el 1 de octubre de 2015 al 30 de septiembre de 2017 y que tuvieron injerto mieloide. Brevemente, la mediana de edad de los pacientes trasplantados fue 43,6 años (18,2-70,5), de los que 73 (61%) fueron hombres. Un tercio de los pacientes tenían más de 50 años (39; 33%) y 26 (21%) habían recibido un TPH previo (autólogo 16; alogénico 10). La mayoría de pacientes (92; 77%) estaban diagnosticados de leucemia aguda (LMA/SMD 70; 59% y LLA 22; 18%), estando una cuarta parte en fase avanzada de la enfermedad (29; 25%) o con un HCT-CI  $\geq 3$  (31; 26%). La mayoría de pacientes eran seropositivos para CMV (87; 73%).

Tabla 5.1. Características basales de los pacientes en la serie global y según el tipo de TPH.

| Variables                        | Total<br>N (%) | DHI<br>N (%) | DNE<br>N (%) | Haplo<br>N (%) | SCU<br>N (%) | P    |
|----------------------------------|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|------|
| <b>Número de pacientes</b>       | 119 (100)      | 53 (45)      | 23 (19)      | 27 (23)        | 16 (13)      |      |
| <b>Edad, años</b>                |                |              |              |                |              |      |
| Mediana                          | 43,6           | 44,2         | 51,9         | 44,9           | 36,2         | 0,5  |
| Extremos                         | 18,2-70,5      | 20,3-70,5    | 23,8-62,9    | 18,9-64,9      | 18,2-58,5    |      |
| <b>Grupos de edad</b>            |                |              |              |                |              | 0,08 |
| $\leq 20$                        | 5 (4)          | 1 (2)        | 0            | 1 (4)          | 3 (19)       |      |
| 21 - 30                          | 20 (17)        | 8 (15)       | 2 (9)        | 7 (26)         | 3 (19)       |      |
| 31 -40                           | 26 (22)        | 14 (26)      | 4 (17)       | 4 (15)         | 4 (25)       |      |
| 41-50                            | 29 (24)        | 16 (30)      | 5 (22)       | 4 (15)         | 4 (25)       |      |
| 51 - 60                          | 31 (26)        | 10 (19)      | 9 (39)       | 10 (37)        | 2 (13)       |      |
| > 60                             | 8 (7)          | 4 (8)        | 3 (13)       | 1 (4)          | 0            |      |
| <b>Sexo, n (%)</b>               |                |              |              |                |              | 0,8  |
| Hombre                           | 73 (61)        | 34 (64)      | 14 (61)      | 17 (63)        | 8 (50)       |      |
| Mujer                            | 46 (39)        | 19 (36)      | 9 (39)       | 10 (37)        | 8 (50)       |      |
| <b>Diagnóstico</b>               |                |              |              |                |              | 0,7  |
| LMA/SMD                          | 70 (59)        | 28 (53)      | 15 (65)      | 19 (70)        | 8 (50)       |      |
| LLA                              | 22 (18)        | 10 (19)      | 3 (13)       | 4 (15)         | 5 (31)       |      |
| Otros                            | 27 (23)        | 15 (28)      | 5 (22)       | 4 (15)         | 3 (19)       |      |
| <b>Fase de enfermedad al TPH</b> |                |              |              |                |              | 0,2  |
| Precoz                           | 53 (47)        | 28 (53)      | 11 (48)      | 7 (26)         | 8 (50)       |      |

|                                |         |         |         |         |         |             |
|--------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|-------------|
| Intermedio                     | 32 (28) | 12 (23) | 5 (22)  | 11 (41) | 4 (25)  |             |
| Avanzado                       | 29 (25) | 13 (25) | 7 (30)  | 9 (33)  | 4 (25)  |             |
| <b>Trasplante previo</b>       |         |         |         |         |         | <b>0,04</b> |
| No                             | 93 (79) | 38 (72) | 21 (91) | 19 (70) | 15 (94) |             |
| Autólogo                       | 16 (13) | 10 (19) | 2 (9)   | 3 (11)  | 1 (6)   |             |
| Alogénico                      | 10 (8)  | 5 (9)   | 0       | 5 (19)  | 0       |             |
| <b>HCT-CI</b>                  |         |         |         |         |         | <b>0,3</b>  |
| 0                              | 52 (44) | 26 (49) | 6 (26)  | 11 (41) | 9 (56)  |             |
| 1-2                            | 36 (30) | 15 (28) | 10 (44) | 6 (22)  | 5 (31)  |             |
| ≥3                             | 31 (26) | 12 (23) | 7 (30)  | 10 (37) | 2 (13)  |             |
| <b>Estado serológico a CMV</b> |         |         |         |         |         | <b>0,9</b>  |
| Positivo                       | 87 (73) | 39 (74) | 16 (70) | 21 (78) | 11 (69) |             |
| Negativo                       | 32 (27) | 14 (26) | 7 (30)  | 6 (22)  | 5 (31)  |             |

DHI: donante hermano HLA-idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: donante familiar haploide; SCU: sangre de cordón umbilical; CMV: citomegalovirus; HCT-CI: hematopoietic cell transplant comorbidity index; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LMA/SMD: leucemia mieloblástica aguda/síndrome mielodisplásico.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

La distribución de las características de los pacientes según el tipo de TPH no mostró diferencias significativas, excepto en la proporción de pacientes que habían recibido un trasplante previo, que fue algo superior en los TPH de hermano HLA-idéntico y haploide (28% y 30%, respectivamente) comparado con DNE y TSCU (9% y 6%, respectivamente) (Tabla 5.1) ( $P = 0,04$ ).

### 5.1.2. Características del trasplante

En la Tabla 5.2 se muestran las características de los trasplantes según el tipo de TPH. La mayoría de los TPH se hicieron con una absoluta compatibilidad ABO (65%), haciéndose con una incompatibilidad mayor en 13% y menor en 23%. TBF y BUFLU fueron los acondicionamientos más usados (66% y 27%, respectivamente), siendo mieloablativos el 61% y de intensidad reducida el 40%. La profilaxis de EICH se basó en el uso de CSA en la mayoría de los pacientes (65%), usándose en el resto CY-PT (35%). Excepto 16 pacientes (13%) que fueron trasplantados con SCU, la fuente de progenitores hematopoyéticos fue la sangre periférica (salvo un paciente que recibió médula ósea de DHI).

Tabla 5.2. Características de los trasplantes en la serie global y según el tipo de TPH.

| Variables                                        | Total<br>N (%) | DHI<br>N (%) | DNE<br>N (%) | Haplo<br>N (%) | SCU<br>N (%) | P      |
|--------------------------------------------------|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|--------|
| <b>Número de pacientes</b>                       | 119 (100)      | 53 (45)      | 23 (19)      | 27 (23)        | 16 (13)      |        |
| <b>Incompatibilidad ABO</b>                      |                |              |              |                |              | 0,9    |
| Mayor                                            | 15 (13)        | 7 (13)       | 2 (9)        | 3 (11)         | 3 (19)       |        |
| Menor                                            | 27 (23)        | 10 (19)      | 5 (22)       | 7 (26)         | 5 (31)       |        |
| Ninguna                                          | 77 (65)        | 36 (68)      | 16 (70)      | 17 (63)        | 8 (50)       |        |
| <b>Emparejamiento de sexo donante – receptor</b> |                |              |              |                |              | 0,2    |
| Hombre – Hombre                                  | 51 (43)        | 25 (47)      | 12 (52)      | 11 (41)        | 3 (19)       |        |
| Hombre – Mujer                                   | 25 (21)        | 8 (15)       | 8 (35)       | 5 (19)         | 4 (25)       |        |
| Mujer – Hombre                                   | 22 (19)        | 9 (17)       | 2 (9)        | 6 (22)         | 5 (31)       |        |
| Mujer – Mujer                                    | 21 (18)        | 11 (21)      | 1 (4)        | 5 (19)         | 4 (25)       |        |
| <b>Tipo de acondicionamiento</b>                 |                |              |              |                |              | <0,001 |
| Basados en TBF                                   | 78 (66)        | 28 (53)      | 22 (96)      | 12 (44)        | 16 (100)     |        |
| Basados en BUFLU                                 | 32 (27)        | 17 (32)      | 0            | 15 (56)        | 0            |        |
| Otros                                            | 9 (8)          | 8 (15)       | 1 (4)        | 0              | 0            |        |
| <b>Esquema acondicionamiento</b>                 |                |              |              |                |              |        |
| BUFLU - AMA                                      | 16 (11)        | 16 (30)      | 0            | 0              | 0            |        |
| BUFLUCY - AMA                                    | 3 (3)          | 0            | 0            | 3 (11)         | 0            |        |
| BUFLUCY - AIR                                    | 7 (6)          | 1 (2)        | 0            | 6 (22)         | 0            |        |
| TBF - AMA                                        | 58 (49)        | 10 (19)      | 21 (91)      | 11 (41)        | 16 (100)     |        |
| TBF - AIR                                        | 20 (17)        | 18 (34)      | 1 (4)        | 1 (4)          | 0            |        |
| Otros - AIR                                      | 15 (13)        | 8 (15)       | 1 (4)        | 6 (22)         | 0            |        |
| <b>Intensidad acondicionamiento</b>              |                |              |              |                |              |        |
| AMA                                              | 72 (61)        | 26 (49)      | 16 (70)      | 14 (52)        | 16 (100)     | 0,002  |
| AIR                                              | 47 (40)        | 27 (51)      | 7 (30)       | 13 (48)        | 0            |        |
| <b>Profilaxis EICH</b>                           |                |              |              |                |              | <0,001 |
| Basados en CSA                                   | 77 (65)        | 45 (85)      | 15 (65)      | 1 (4)          | 16 (100)     |        |
| Basados en CY-PT                                 | 42 (35)        | 8 (15)       | 8 (35)       | 26 (96)        | 0            |        |
| <b>Esquemas basados en CSA</b>                   |                |              |              |                |              |        |
| CSA                                              | 2 (2)          | 2 (4)        | 0            | 0              | 0            |        |
| CSA + MTX                                        | 52 (44)        | 37 (70)      | 14 (61)      | 1 (4)          | 0            |        |
| CSA + MFM                                        | 12 (10)        | 6 (11)       | 1 (4)        | 0              | 5 (31)       |        |
| CSA + PDN                                        | 11 (9)         | 0            | 0            | 0              | 11 (69)      |        |
| <b>Esquemas basados en CY-PT</b>                 |                |              |              |                |              |        |
| CY-PT + CSA + MFM                                | 18 (15)        | 0            | 0            | 18 (67)        | 0            |        |
| CY-PT + Sir + MFM                                | 24 (20)        | 8 (15)       | 8 (35)       | 8 (30)         | 0            |        |
| <b>Fuente de progenitores</b>                    |                |              |              |                |              |        |

|                                                     |           |           |           |          |           |               |
|-----------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|---------------|
| Médula ósea                                         | 1 (1)     | 1 (2)     | 0         | 0        | 0         |               |
| Sangre periférica                                   | 102 (86)  | 52 (98)   | 23 (100)  | 27 (100) | 0         |               |
| Sangre cordón                                       | 16 (13)   | 0         | 0         | 0        | 16 (100)  |               |
| <b>Células CD34<sup>+</sup>/kg x 10<sup>6</sup></b> |           |           |           |          |           | <b>0,0001</b> |
| Mediana                                             | 6,3       | 6,2       | 5,8       | 6,8      | 0,3       |               |
| Extremos                                            | 0,1-15,6  | 1,5-15,6  | 2,3-12,5  | 2,2-13,8 | 0,1-0,5   |               |
| <b>Tiempo de seguimiento</b>                        |           |           |           |          |           |               |
| Mediana                                             | 50,3      | 51,7      | 48,5      | 48       | 50,6      |               |
| Extremos                                            | 35,5-73,5 | 36,4-67,5 | 41,4-63,7 | 38-67,7  | 35,5-73,5 |               |

DHI: donante hermano HLA-idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: donante familiar haploidéntico; SCU: sangre de cordón umbilical; TBF: tiotepa-busulfán-fludarabina; BUFLU: busulfán-fludarabina; BUFLUCY: busulfán-fludarabina-ciclofosfamida; AMA: acondicionamiento mieloablativo; AIR: acondicionamiento de intensidad reducida; EICH: enfermedad injerto-contra-huésped; CSA: ciclosporina A; CY-PT: ciclofosfamida pos-trasplante; MTX: metotrexato; MFM: micofenolato mofetilo; PDN: prednisona; Sir: sirólimus.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

La distribución de las características de los trasplantes según el tipo de TPH mostró diferencias significativas, siendo la mayoría explicadas por la propia naturaleza de los distintos tipos de TPH. Así, todos los receptores de un TPH de SCU y todos los receptores de un DNE excepto un paciente, recibieron acondicionamiento TBF, siendo todos AMA (excepto 2 de DNE que recibieron AIR). Con respecto a la profilaxis de la EICH, todos los TSCU recibieron esquemas basados en CSA (con PDN 69% y con MFM 31%) y un 85% de los TPH de hermano HLA-idéntico, mientras que todos los haploidénticos, excepto uno, recibieron esquemas basados en CY-PT. La dosis de células CD34<sup>+</sup> infundida fue muy similar en todas las modalidades de TPH, excepto en el TSCU, que fue significativamente inferior ( $P = 0.0001$ ).

### 5.1.3. Injerto mieloide y plaquetar

En la Tabla 5.3 se muestra la mediana de tiempo hasta el injerto mieloide y plaquetar de la serie global y de los distintos tipos de TPH. La incidencia acumulada de injerto mieloide a los 40 días fue de 100% en la serie global (Figura 5.1), siendo la recuperación de neutrófilos significativamente más rápida en los TPH de hermano HLA-idéntico, en los que a los 20 días se habían producido el 100% de injertos (Figura 5.2).

Tabla 5.3. Resultados globales y según el tipo de trasplante del injerto mieloide y plaquetar.

| Resultado               | Tiempo hasta injerto PMN, días<br>Mediana (extremos) | P                 | Tiempo hasta injerto plaquetas, días<br>Mediana (extremos) | P             |
|-------------------------|------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>Serie global</b>     | 15 (7-39)                                            |                   | 20 (11-208)                                                |               |
| <b>Hermano idéntico</b> | 13 (7-20)                                            | <b>&lt;0,0001</b> | 16 (11-68)                                                 | <b>0,0002</b> |
| <b>DNE</b>              | 15 (11-39)                                           |                   | 19 (13-158)                                                |               |
| <b>Haploidéntico</b>    | 17 (13-31)                                           |                   | 31 (13-208)                                                |               |
| <b>TSCU</b>             | 16 (8-24)                                            |                   | 38 (24-82)                                                 |               |

PMN: polimorfonucleares; DNE: donante no emparentado; TSCU: trasplante de sangre de cordón umbilical.

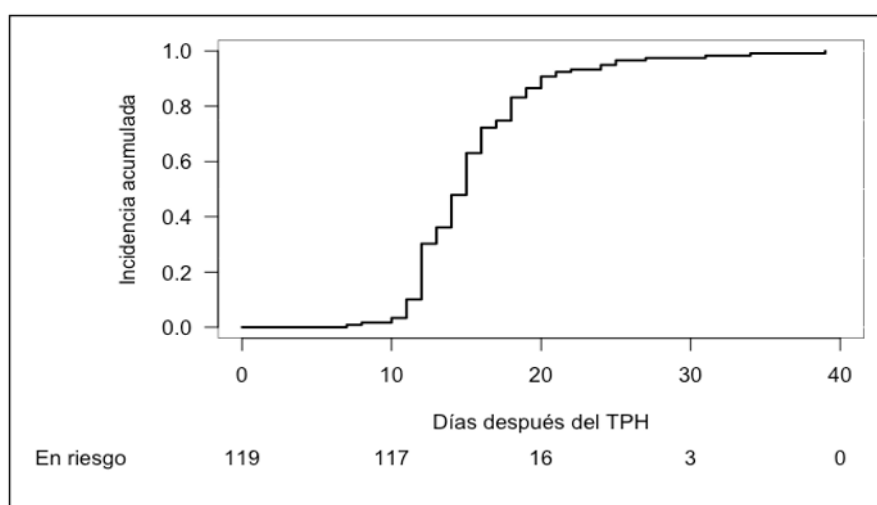


Figura 5.1. Incidencia acumulada de injerto mieloide

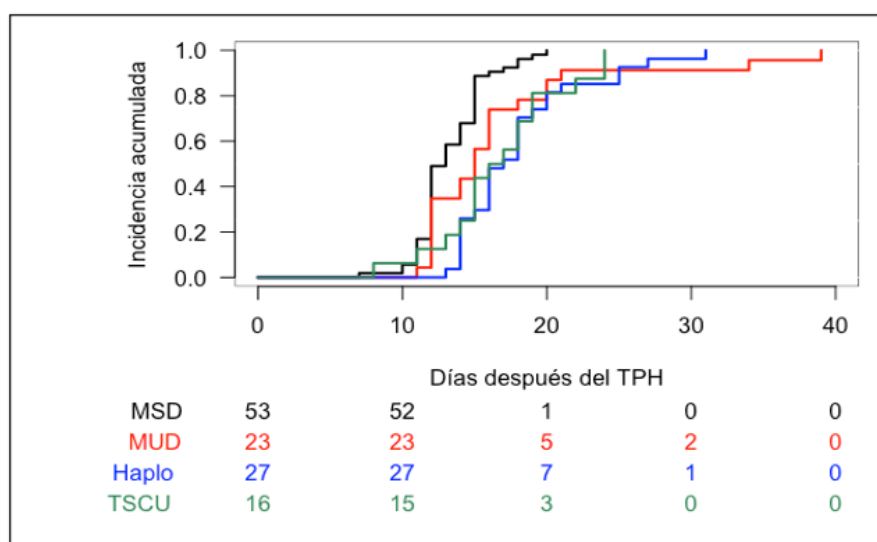


Figura 5.2. Incidencia acumulada de injerto mieloide según el tipo de trasplante

MSD: hermano idéntico; MUD: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; TSCU: trasplante de sangre de cordón umbilical.

La incidencia acumulada de injerto plaquetar a los 2 y 3 meses fue de 91% y 97%, respectivamente, en la serie global (Figura 5.3), siendo la recuperación de plaquetas significativamente más rápida en los TPH de hermano HLA-idéntico, en los que a los 80 días la probabilidad de injerto fue del 98% (Figura 5.4).

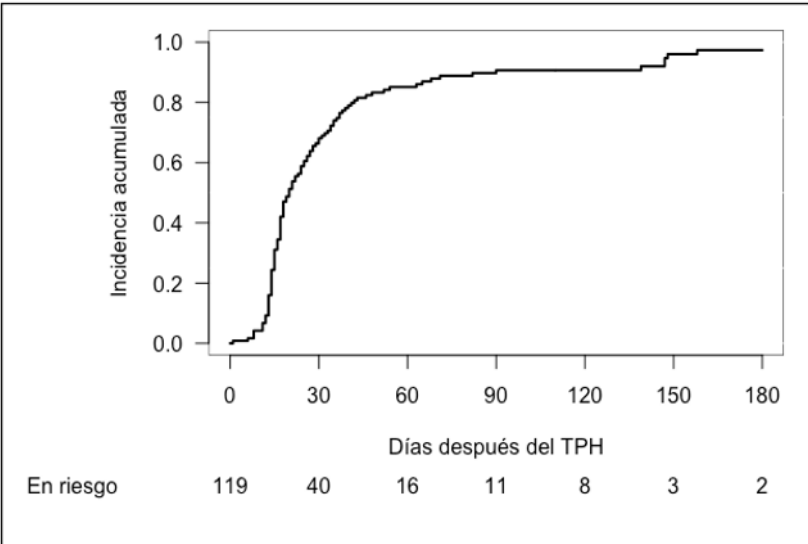


Figura 5.3. Incidencia acumulada de injerto plaquetar.

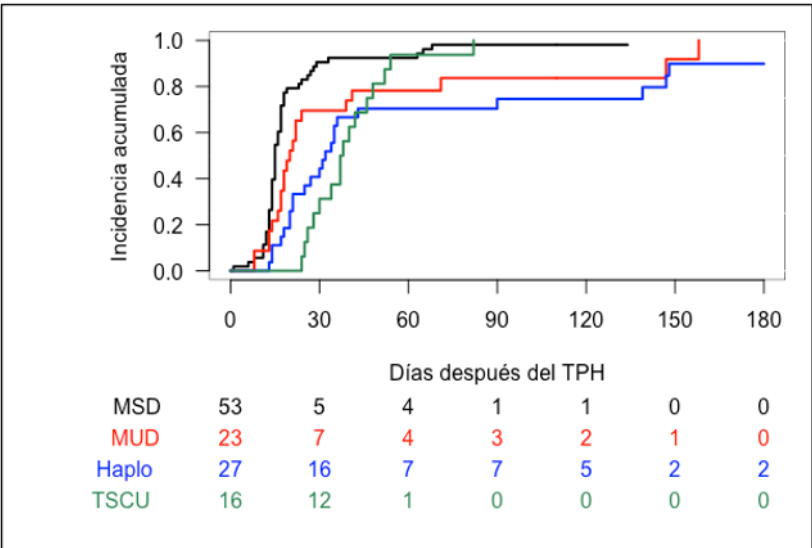


Figura 5.4. Incidencia acumulada de injerto plaquetar según el tipo de trasplante.

MSD: hermano idéntico; MUD: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; TSCU: trasplante de sangre de cordón umbilical.

### 5.1.4.Recaída

Cuarenta y cinco pacientes de 119 (38%) recayeron en una mediana de tiempo de 7,1 meses después del trasplante (1,2-50,9). La incidencia acumulada de recaída a los 3 años fue de 37% (IC 95%, 28-46) (Figura 5.5).

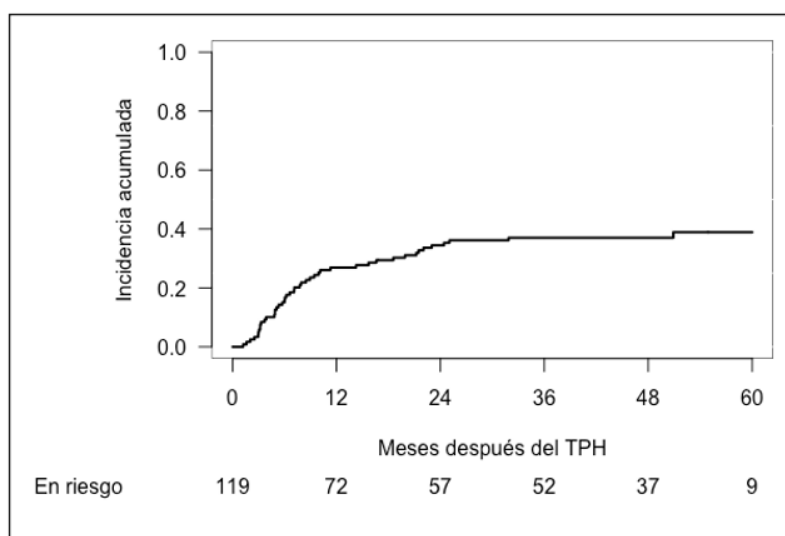


Figura 5.5. Incidencia acumulada de recaída en la serie global.

La incidencia acumulada de recaída a 3 años fue 40% (IC 95%, 27-53) en el trasplante de hermano HLA idéntico, 30% en el de DNE (IC 95%, 12-49), 44% en el haploidéntico (IC 95%, 26-63) y 25% en el TSCU (IC 95%, 4-46) ( $P = 0,43$ ) (Figura 5.6).

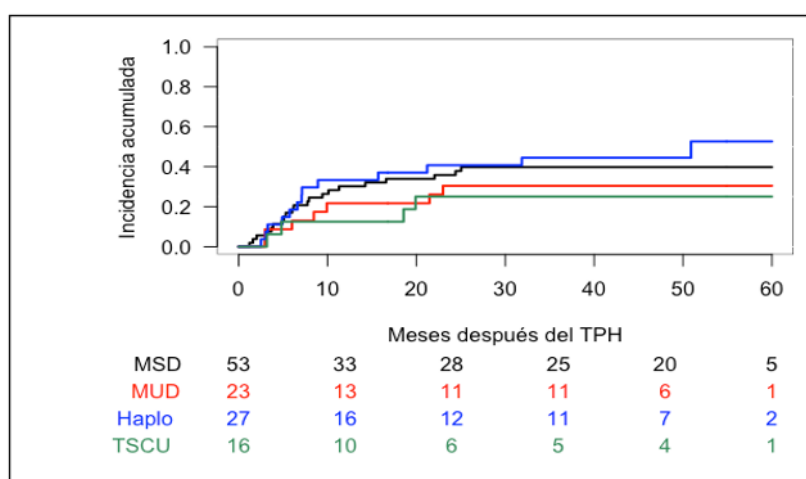


Figura 5.6. Incidencia acumulada de recaída según el tipo de trasplante. MSD: hermano idéntico; MUD: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; TSCU: trasplante de sangre de cordón umbilical.

**5.1.5. Mortalidad sin recaída y causas de muerte**

Veintitrés pacientes (19%) murieron por causas no relacionadas con la recaída en una mediana de tiempo de 6,7 meses después del trasplante (1,5-49,1). La incidencia acumulada de mortalidad sin recaída al día 100 y a los 3 años del trasplante fue de 4% (IC 95%, 0,6-8) y 18% (IC 95%, 11,5-25), respectivamente (Figura 5.7).

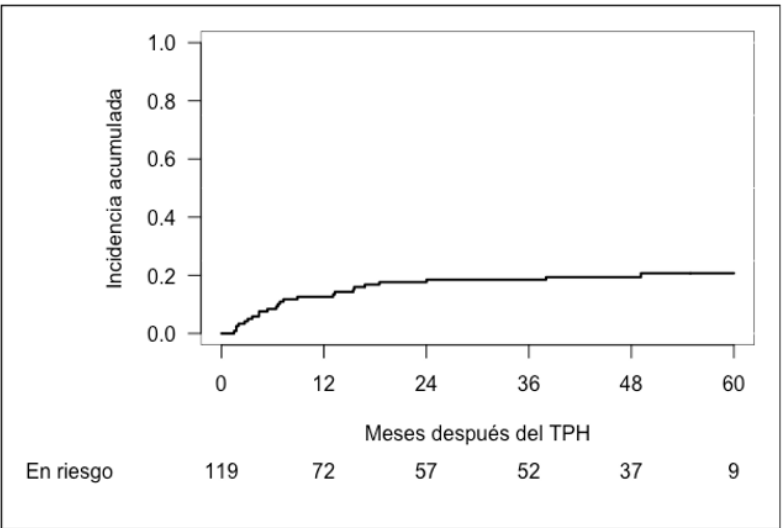


Figura 5.7. Incidencia acumulada de MSR.

La incidencia acumulada de MSR a 3 años en el trasplante de hermano HLA idéntico fue 13% (IC 95%, 4,1-22), en el de DNE 22% (IC 95%, 5-39), en el haploidéntico 15% (IC 95%, 1-28) y en el TSCU 38% (IC 95%, 14-61) (P = 0,28) (Figura 5.8).

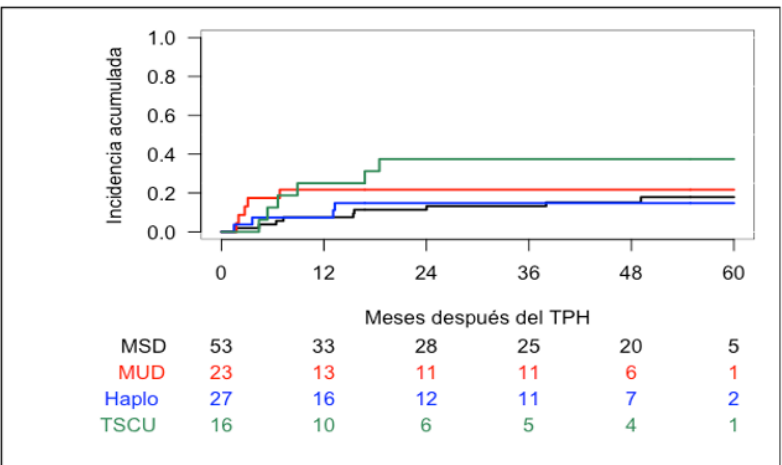


Figura 5.8. Incidencia acumulada de MSR según el tipo de trasplante.

MSD: hermano idéntico; MUD: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; TSCU: trasplante de sangre de cordón umbilical.



Como se muestra en la Figura 5.9, de los 63 (53%) pacientes que murieron, la mayoría lo hicieron tras una recaída ( $n = 40$ ; 63%). El resto de pacientes ( $n = 23$ ; 37%) murieron por alguna de las siguientes causas: EICH ( $n = 10$ ; 16%), infección ( $n = 6$ ; 9%), segunda neoplasia ( $n = 4$ ; 6%) y uno de cada por neumonitis intersticial, fallo secundario de injerto y hemorragia cerebral. Las neoplasias secundarias fueron 2 SLPT-VEB y 2 neoplasias de pulmón.

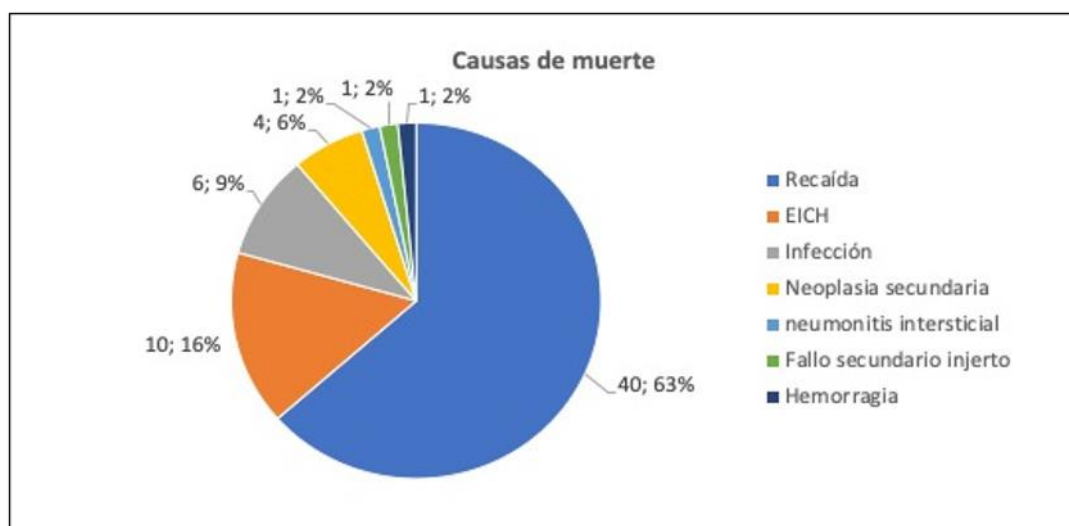


Figura 5.9. Causas de muerte en la serie global.

Considerando solo los 23 pacientes que murieron sin recaída, la causada por EICH representó el 44% (Figura 5.10).

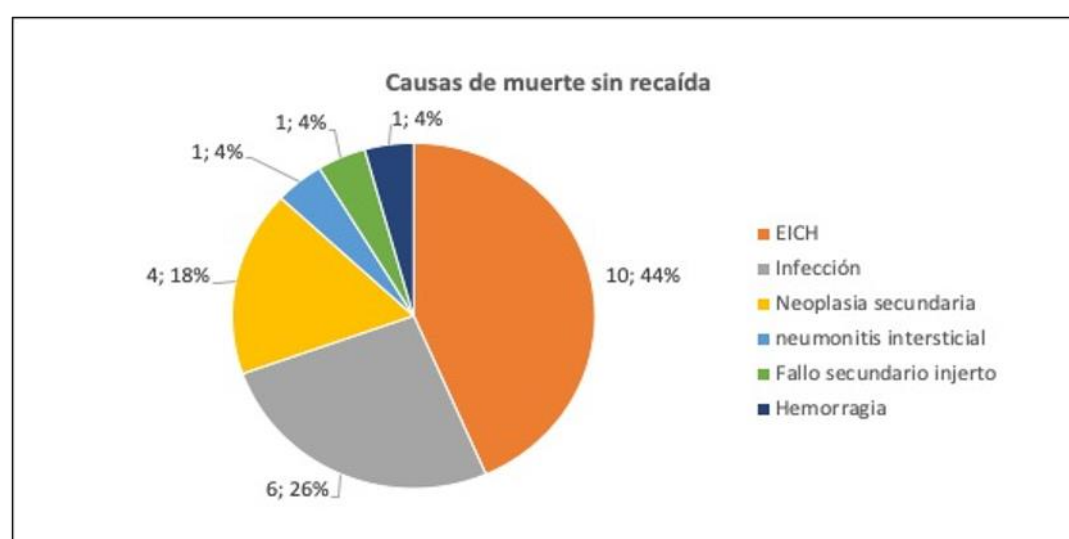


Figura 5.10. Causas de muerte sin recaída en la serie global.

### 5.1.6. Supervivencia libre de enfermedad

Cincuenta pacientes (42%) permanecen vivos y libres de recaída en el último seguimiento. La mediana tiempo de seguimiento postrasplante fue de 50 meses (35,5-73,5). La SLE a 3 años fue de 44% (IC 95%, 35-53) (Figura 5.11).

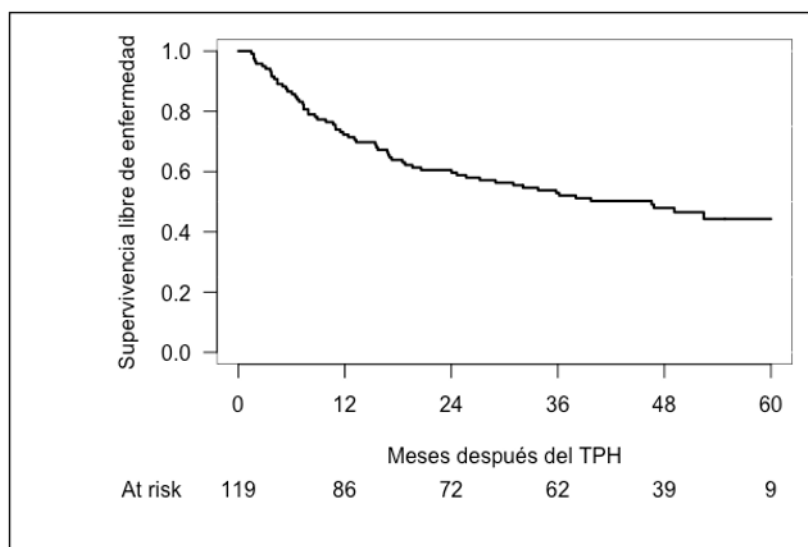


Figura 5.11. Supervivencia libre de enfermedad en la serie global.

La SLE a 3 años fue en el trasplante de hermano HLA idéntico 59% (IC 95%, 47-73), en el DNE 48% (IC 95%, 31-73), en el haploidéntico 52% (IC 95%, 36-75) y en el TSCU 43% (IC 95%, 24-76) ( $P = 0,9$ ) (Figura 5.12).

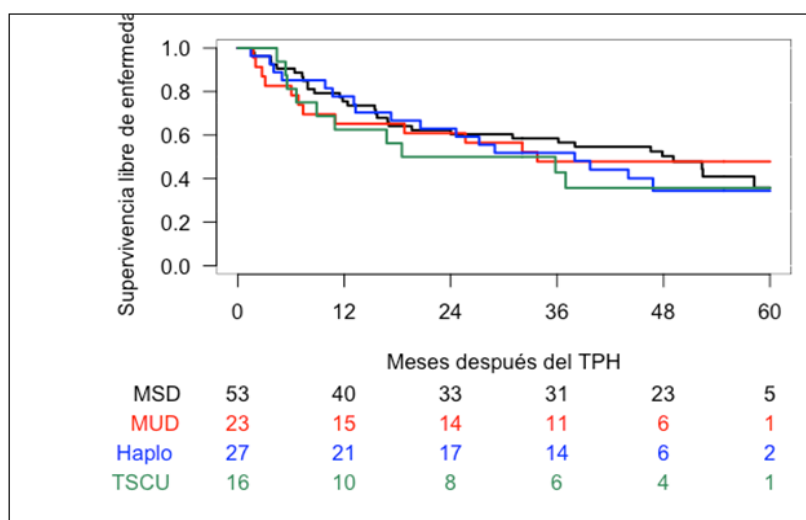


Figura 5.12. Supervivencia libre de enfermedad según el tipo de trasplante

MSD: hermano idéntico; MUD: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; TSCU: trasplante de sangre de cordón umbilical.

### 5.1.7. Supervivencia global

Cincuenta y seis (47%) pacientes permanecían vivos en el último seguimiento. La supervivencia de la serie global a los 3 años fue de 48% (IC 95%: 39-57) (Figura 5.13).

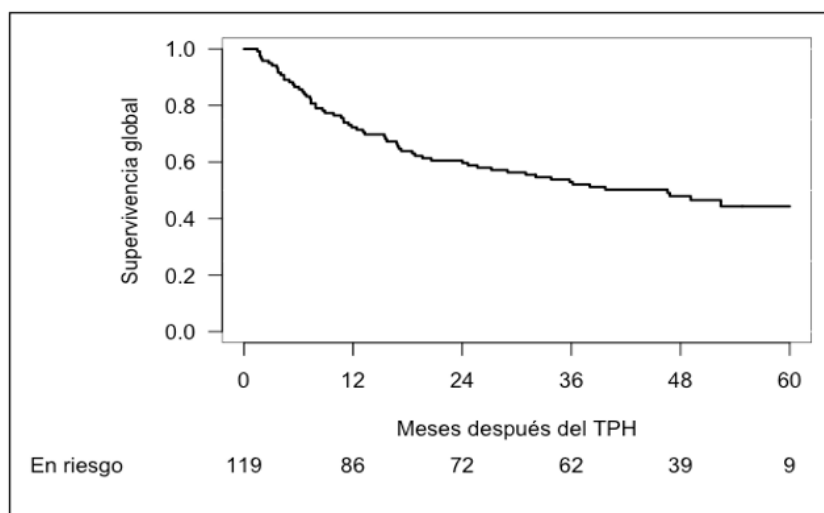


Figura 5.13. Supervivencia de la serie global.

La SG a 3 años en el trasplante de hermano HLA idéntico 59% (IC 95%, 47-73), en el de DNE 48% (IC 95%, 31-73), en el haploidéntico 52% (IC 95%, 36-75) y en el TSCU 43% (IC 95%, 24-76) ( $P = 0,9$ ) (Figura 5.14).

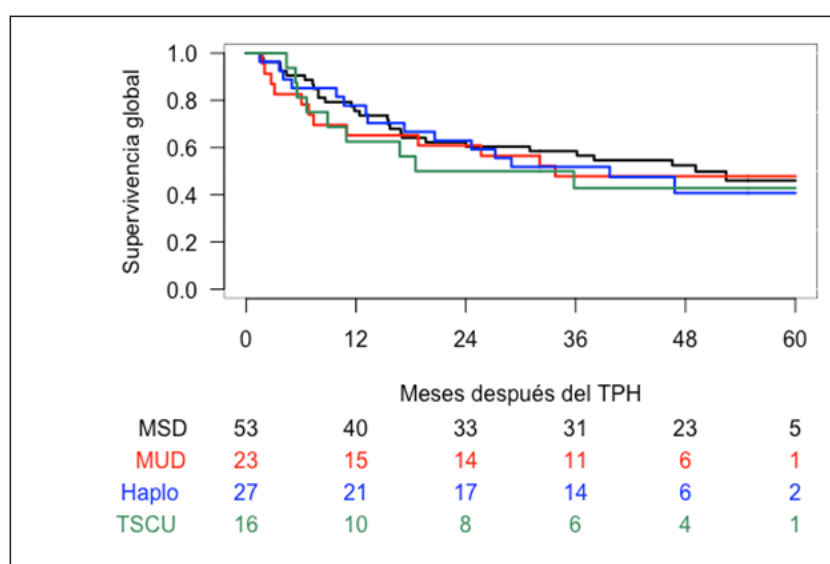


Figura 5.14. Supervivencia global según el tipo de trasplante

MSD: hermano idéntico; MUD: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; TSCU: trasplante de sangre de cordón umbilical.

**5.1.8. Supervivencia libre de EICH y recaída**

Cuarenta y un pacientes (34%) permanecían vivos y libres de recaída y EICH en el último seguimiento. La supervivencia libre de enfermedad y recaída (SLER) a 3 años fue de 39% (IC 95%, 31-48) (Figura 5.15).

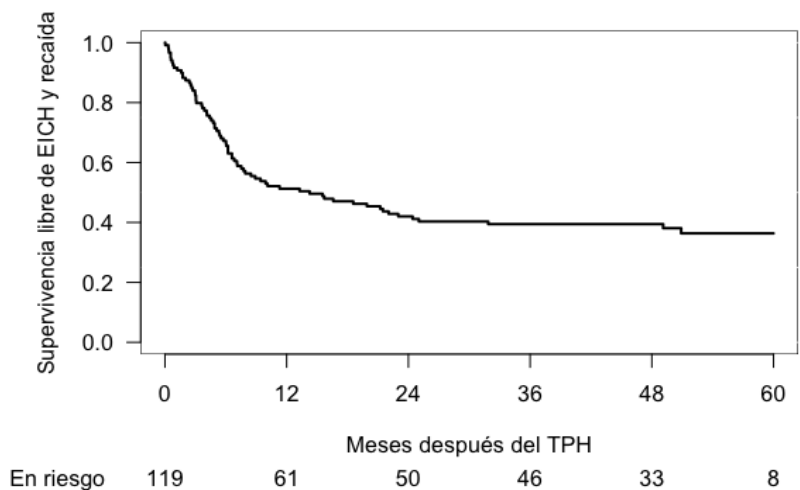


Figura 5.15. Supervivencia libre de EICH y recaída en la serie global.

La SLER a 3 años según el tipo de donante, fue para el trasplante de hermano HLA idéntico 40% (IC 95%, 28-55), para el DNE 48% (IC 95%, 31-73), para el haploidéntico 37% (IC 95%, 23-61) y para el TSCU 31% (IC 95%, 15-65) ( $P = 0.8$ ) (Figura 5.16).

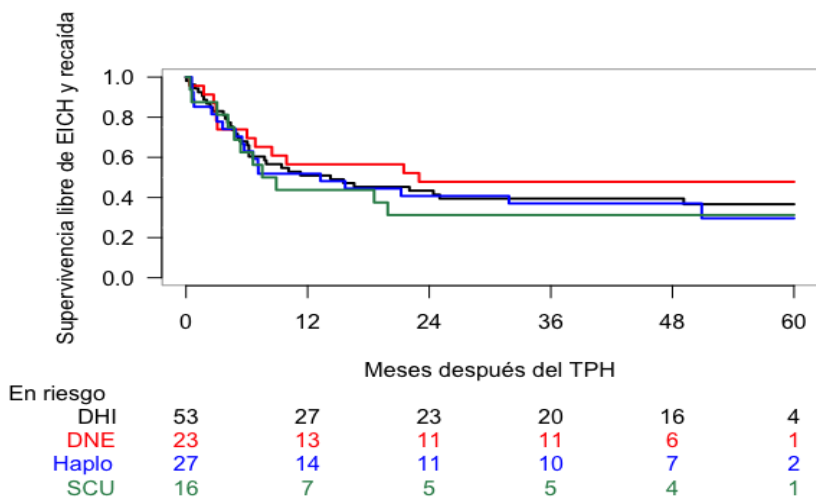


Figura 5.16. Supervivencia libre de EICH y recaída según el tipo de trasplante.

DHI: donante hermano idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; SCU: sangre de cordón umbilical.

## 5.2. Análisis de la EICH aguda

### 5.2.1. Características de los pacientes

En la Tabla 5.4 se muestran las características basales de los pacientes que desarrollaron EICH aguda de cualquier grado. No se observaron diferencias significativas con los pacientes que no tuvieron EICH aguda.

Tabla 5.4. Características de los pacientes según el desarrollo de EICH aguda.

| Variables                        | EICHa<br>N (%) | No EICHa<br>N (%) | P   |
|----------------------------------|----------------|-------------------|-----|
| <b>Número de pacientes</b>       | 75 (65)        | 44 (35)           |     |
| <b>Grupos de edad</b>            |                |                   | 0,4 |
| ≤20                              | 5 (7)          | 0                 |     |
| 21 – 30                          | 12 (16)        | 8 (18)            |     |
| 31 – 40                          | 14 (19)        | 12 (27)           |     |
| 41 – 50                          | 17 (23)        | 12 (27)           |     |
| 51 – 60                          | 22 (29)        | 9 (21)            |     |
| > 60                             | 5 (7)          | 3 (7)             |     |
| <b>Sexo, n (%)</b>               |                |                   | 0,6 |
| Hombre                           | 44 (59)        | 29 (66)           |     |
| Mujer                            | 31 (41)        | 15 (34)           |     |
| <b>Diagnóstico</b>               |                |                   | 0,5 |
| LMA/SMD                          | 41 (55)        | 29 (66)           |     |
| LLA                              | 15 (20)        | 7 (16)            |     |
| Otros                            | 19 (25)        | 8 (18)            |     |
| <b>Fase de enfermedad al TPH</b> |                |                   | 0,4 |
| Precoz                           | 31 (41)        | 23 (52)           |     |
| Intermedio                       | 20 (27)        | 12 (27)           |     |
| Avanzado                         | 24 (32)        | 9 (21)            |     |
| <b>Trasplante previo</b>         |                |                   | 0,1 |
| No                               | 56 (75)        | 37 (84)           |     |
| Autólogo                         | 13 (17)        | 3 (7)             |     |
| Alogénico                        | 6 (8)          | 4 (10)            |     |
| <b>HCT-CI</b>                    |                |                   | 0,7 |
| 0                                | 35 (47)        | 17 (39)           |     |
| 1-2                              | 22 (29)        | 14 (32)           |     |
| ≥3                               | 18 (24)        | 13 (30)           |     |
| <b>Estado serológico a CMV</b>   |                |                   | 0,9 |
| Positivo                         | 54 (72)        | 33 (75)           |     |
| Negativo                         | 21 (28)        | 11 (25)           |     |

LMA/SMD: leucemia mieloide aguda/síndrome mielodisplásico; LLA: leucemia linfática aguda; HCT-CI: hematopoietic cell transplant comorbidity index; CMV: citomegalovirus. Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

### 5.2.2. Características de los trasplantes

En la Tabla 5.5 se muestran las características de los trasplantes en los pacientes que desarrollaron EICH aguda de cualquier grado. No se observaron diferencias significativas con los pacientes que no tuvieron EICH aguda, excepto en la proporción de las fuentes de progenitores, habiendo una mayor proporción de EICH aguda en lo pacientes que recibieron un TSCU ( $n = 15$ ; 94%) ( $P = 0,004$ ).

Tabla 5.5. Características de los trasplantes según el desarrollo de EICH aguda.

| Variables                                        | EICH<br>N (%) | No EICH<br>N (%) | P   |
|--------------------------------------------------|---------------|------------------|-----|
| <b>Número de pacientes</b>                       | 75 (65)       | 44 (35)          |     |
| <b>Incompatibilidad ABO</b>                      |               |                  | 0,3 |
| Mayor                                            | 12 (16)       | 3 (7)            |     |
| Menor                                            | 17 (23)       | 10 (23)          |     |
| Ninguna                                          | 46 (61)       | 31 (71)          |     |
| <b>Emparejamiento de sexo donante – receptor</b> |               |                  | 0,7 |
| Hombre – Hombre                                  | 29 (39)       | 22 (50)          |     |
| Hombre – Mujer                                   | 17 (23)       | 8 (18)           |     |
| Mujer – Hombre                                   | 15 (20)       | 7 (16)           |     |
| Mujer – Mujer                                    | 14 (19)       | 7 (16)           |     |
| <b>Tipo de acondicionamiento</b>                 |               |                  | 0,9 |
| Basados en TBF                                   | 50 (67)       | 28 (64)          |     |
| Basados en BUFLU                                 | 20 (27)       | 12 (27)          |     |
| Otros                                            | 5 (7)         | 4 (9)            |     |
| <b>Esquema acondicionamiento</b>                 |               |                  | 0,1 |
| BUFLU - AMA                                      | 5 (7)         | 11 (25)          |     |
| BUFLUCY - AMA                                    | 3 (4)         | 0                |     |
| BUFLUCY - AIR                                    | 6 (8)         | 1 (2)            |     |
| TBF - AMA                                        | 38 (51)       | 20 (45)          |     |
| TBF - AIR                                        | 12 (16)       | 8 (18)           |     |
| Otros - AIR                                      | 11 (15)       | 2 (5)            |     |
| <b>Intensidad acondicionamiento</b>              |               |                  | 0,7 |
| AMA                                              | 44 (59)       | 28 (64)          |     |
| AIR                                              | 31 (41)       | 16 (36)          |     |
| <b>Tipos de profilaxis EICH</b>                  |               |                  | 1   |

|                                                     |          |          |              |
|-----------------------------------------------------|----------|----------|--------------|
| Basados en CSA                                      | 49 (65)  | 26 (64)  |              |
| Basados en CY-PT                                    | 26 (35)  | 16 (36)  |              |
| <b>Esquemas basados en CSA</b>                      |          |          |              |
| CSA                                                 | 0        | 2 (5)    |              |
| CSA + MTX                                           | 30 (39)  | 22 (52)  |              |
| CSA + MFM                                           | 10 (13)  | 2 (5)    |              |
| CSA + PDN                                           | 10 (13)  | 1 (2)    |              |
| <b>Esquemas basados en CY-PT</b>                    |          |          |              |
| CY-PT + CSA + MFM                                   | 15 (20)  | 3 (7)    |              |
| CY-PT + Sir + MFM                                   | 11 (14)  | 13 (31)  |              |
| <b>Fuente de progenitores</b>                       |          |          | <b>0,004</b> |
| Médula ósea                                         | 0        | 1 (2)    |              |
| Sangre periférica                                   | 60 (80)  | 42 (96)  |              |
| Sangre cordón umbilical                             | 15 (20)  | 1 (2)    |              |
| <b>Células CD34<sup>+</sup>/kg x 10<sup>6</sup></b> |          |          | <b>0,8</b>   |
| Mediana                                             | 6,3      | 5,9      |              |
| Extremos                                            | 0,1-15,6 | 0,3-13,8 |              |

TBF: tiopeta-busulfán-fludarabina; BUFLU: busulfán-fludarabina; BUFLUCY: busulfán-fludarabina-ciclofosfamida; AMA: acondicionamiento mieloablatoivo; AIR: acondicionamiento de intensidad reducida; CSA: ciclosporina A; CY-Pt. ciclofosfamida pos-trasplante; MTX: metotrexato; MFM: micofenolato mofetil; Sir: sirólimus.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

### 5.2.3. Grado global y por órganos

En la Tabla 5.6 se muestra la distribución de los episodios de EICH aguda por grados y localización en los 75 pacientes que la desarrollaron. La mediana de tiempo hasta el desarrollo de una EICH aguda de cualquier grado, grado II-IV y III-IV fue de 28 días (10-142), 28 días (10-82), 17 días (10-73), respectivamente.

Tabla 5.6. Grado de la EICH aguda global y por órganos.

| Localización            | Total<br>N (%)  | Grado I<br>N (%) | Grado II<br>N (%) | Grado III<br>N (%) | Grado IV<br>N (%) |
|-------------------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| <b>Global</b>           | <b>75 (100)</b> | <b>24 (32)</b>   | <b>41 (55)</b>    | <b>5 (7)</b>       | <b>5 (7)</b>      |
| <b>Cutánea</b>          | <b>70 (93)</b>  | <b>24 (34)</b>   | <b>37 (53)</b>    | <b>5 (7)</b>       | <b>4 (6)</b>      |
| 1                       | 26 (37)         | 15 (63)          | 10 (27)           | 1 (20)             | 0                 |
| 2                       | 26 (37)         | 9 (37)           | 13 (35)           | 2 (40)             | 2 (50)            |
| 3                       | 17 (24)         | 0                | 14 (38)           | 2 (40)             | 1 (25)            |
| 4                       | 1 (1)           | 0                | 0                 | 0                  | 1 (25)            |
| <b>Gastrointestinal</b> | <b>41 (55)</b>  | <b>1 (2)</b>     | <b>30 (73)</b>    | <b>5 (12)</b>      | <b>5 (12)</b>     |
| 1                       | 31 (76)         | 1 (100)          | 30 (100)          | 0                  | 0                 |
| 2                       | 4 (10)          | 0                | 0                 | 4 (80)             | 0                 |
| 3                       | 1 (2)           | 0                | 0                 | 1 (20)             | 0                 |
| 4                       | 5 (12)          | 0                | 0                 | 0                  | 5 (100)           |
| <b>Hepática</b>         | <b>6 (8)</b>    | <b>0</b>         | <b>5 (83)</b>     | <b>1 (17)</b>      | <b>0</b>          |
| 1                       | 5 (83)          | 0                | 5 (100)           | 0                  | 0                 |
| 2                       | 0               | 0                | 0                 | 0                  | 0                 |
| 3                       | 1 (17)          | 0                | 0                 | 1 (100)            | 0                 |
| 4                       | 0               | 0                | 0                 | 0                  | 0                 |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

Como muestra la Tabla 5.6, el órgano más frecuentemente involucrado fue la piel (70 de 75; 93%), seguido de tracto gastrointestinal (41 de 75; 55%) y el hígado (6 de 75; 8%) (Figura 5.17).

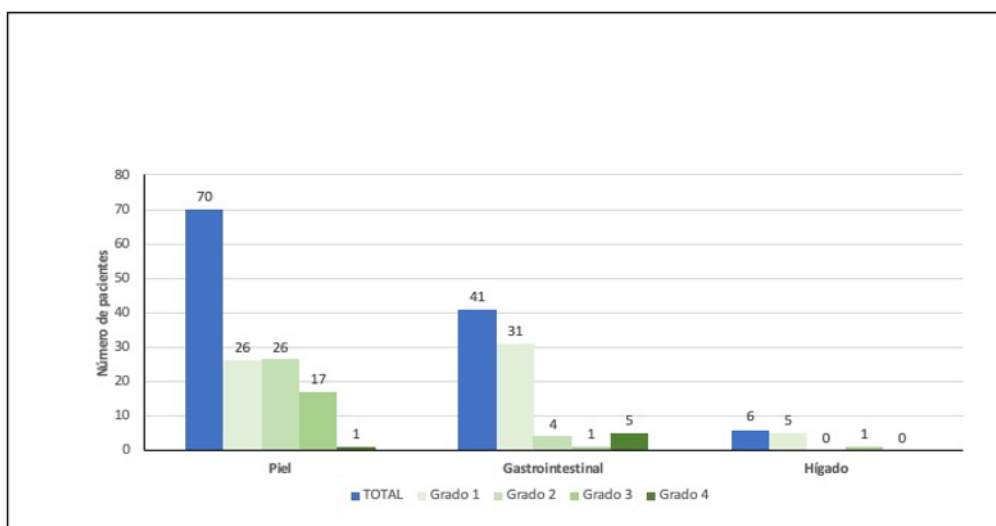


Figura 5.17. Distribución y grado de afectación de órganos en la EICH aguda.



En la Figura 5.18 se muestran los órganos afectados en la EICH aguda, siendo la afectación cutánea aislada ( $n = 30$ ; 40%) o combinada con la gastrointestinal ( $n = 34$ ; 45%) las formas más comunes. En cinco pacientes (7%) observamos una afectación gastrointestinal aislada, pero en ningún caso se observó una afectación hepática aislada. El resto de combinaciones fueron cutánea y hepática ( $n = 4$ ; 5%) y cutánea, hepática y gastrointestinal ( $n = 2$ ; 3%).

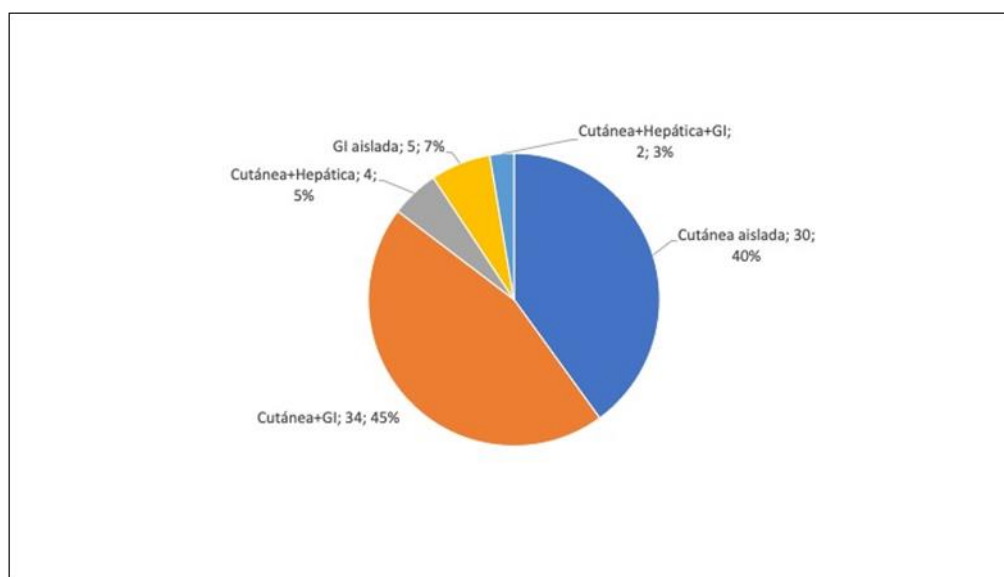


Figura 5.18. Órganos involucrados en la EICH aguda.

GI: gastrointestinal.

#### 5.2.4. Incidencia acumulada de EICH aguda

Una EICH aguda de cualquier grado, grado II-IV y grado III-IV se observó en 75, 51 y 10 pacientes respectivamente, siendo la incidencia acumulada a los 100 días del 62% (IC 95%, 53-71) (Figura 5.19), 43% (IC 95%, 34-52) (Figura 5.20) y 8% (IC 95%, 3-13) (Figura 5.20), respectivamente.

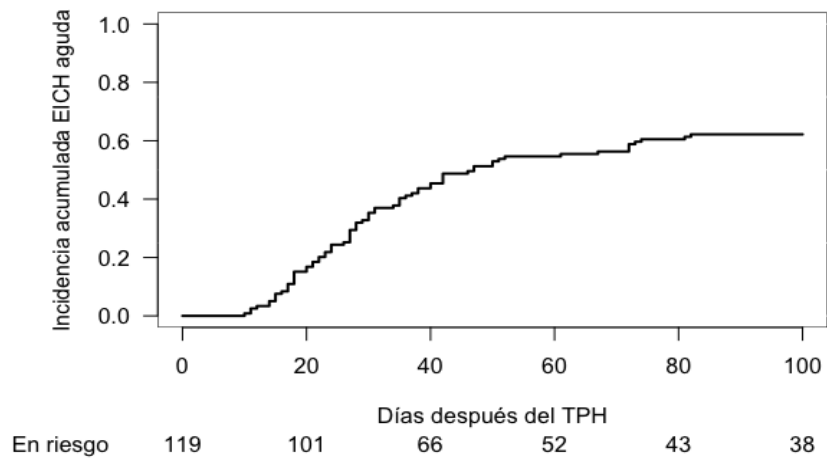


Figura 5.19. Incidencia acumulada de EICH aguda grado I-IV.

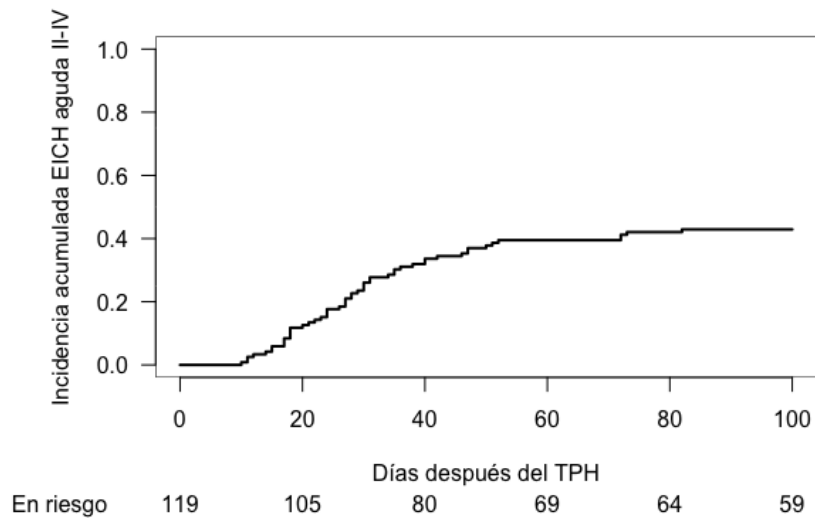


Figura 5.20. Incidencia acumulada de EICH aguda grado II-IV.

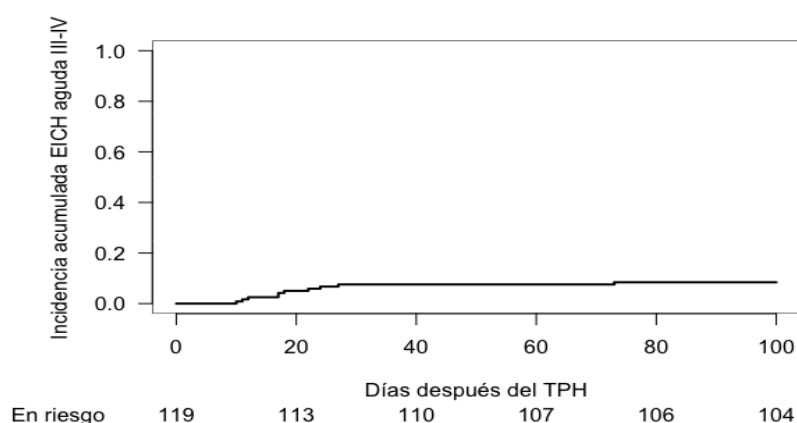


Figura 5.21. Incidencia acumulada de EICH aguda grado III-IV.

### 5.2.5. Factores de riesgo

El tipo de TPH fue el único factor de riesgo identificado en el análisis univariable de la incidencia acumulada de EICH aguda grado I-IV y II-IV, pero no en III-IV. La incidencia acumulada a 100 días de EICH aguda de cualquier grado según el tipo de TPH (DHI, DNE, haplo y SCU) fue respectivamente 51% (IC 95%, 37-64), 52% (IC 95%, 32-73), 78% (IC 95%, 62-93) y 94% (IC 95%, 82-100) ( $P = 0,006$ ) (Figura 5.22).

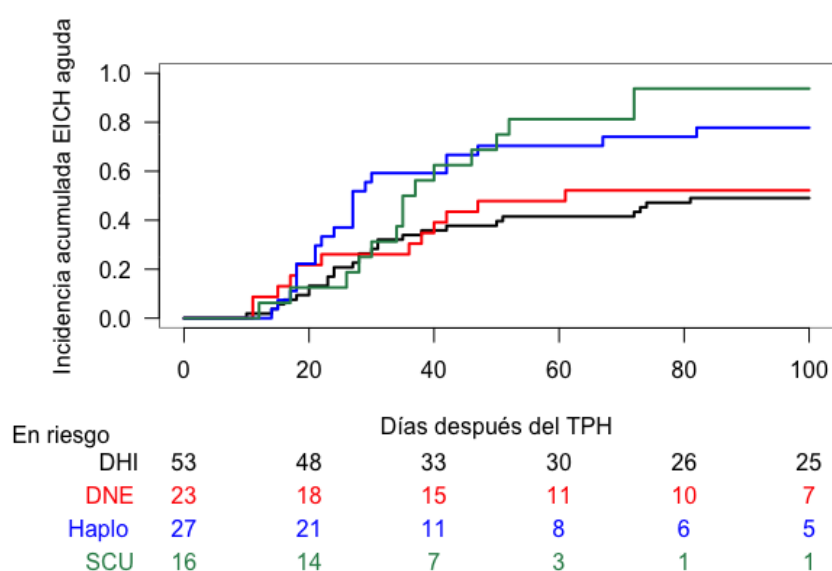


Figura 5.22. Incidencia acumulada de EICH aguda grado I-IV según tipo de TPH.

DHI: donante hermano idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: haploidentico; SCU: sangre de cordón umbilical.

La incidencia acumulada de EICH aguda grado II-IV fue 28% (IC 95%, 16-41) en el DHI, 35% (IC 95%, 15-54) en el DNE, 56% (IC 95%, 37-74) en el haplo y 81% (IC 95%, 62-100) en el TSCU ( $P = 0,002$ ) (Figura 5.23).

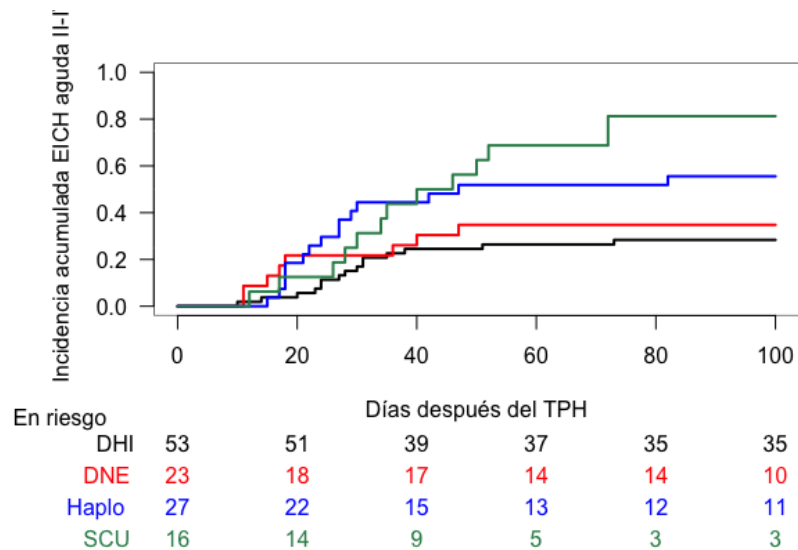


Figura 5.23. Incidencia acumulada de EICH aguda grado II-IV según tipo de TPH.

DHI: donante hermano idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; SCU: sangre de cordón umbilical.

La incidencia acumulada de EICH aguda grado III-IV fue respectivamente 6% (IC 95%, 0-12), 4% (IC 95%, 0-13), 15% (IC 95%, 1-28) y 12% (IC 95%, 0-29) ( $P = 0,4$ ) (Figura 5.24).

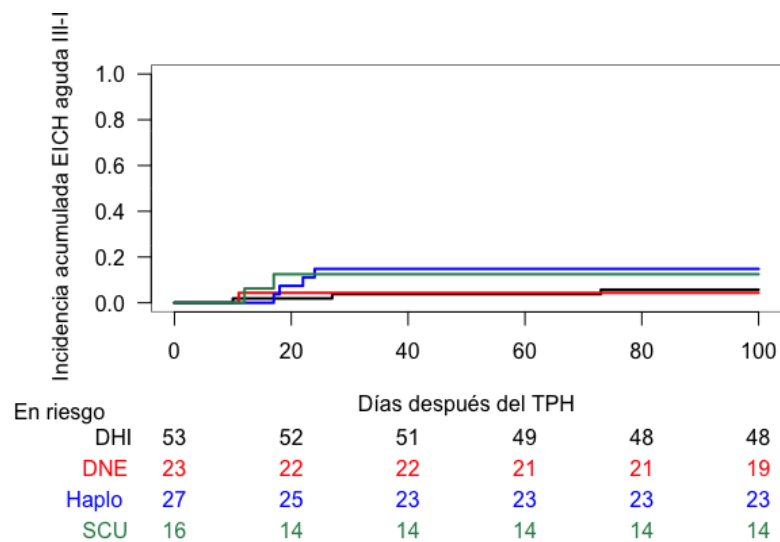


Figura 5.24. Incidencia acumulada de EICH aguda grado III-IV según tipo de TPH.

DHI: donante hermano idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; SCU: sangre de cordón umbilical.

**5.2.6. Formas clínicas**

Sesenta y cinco de los 75 pacientes con EICH aguda (87%) presentaron una forma clásica y 8 tardías (11%), de las cuales 6 fueron recurrentes y 2 persistentes. Dos pacientes presentaron una forma hiperaguda, ambos en el día 11 postrasplante.

**5.2.7. Tipo de lesiones cutáneas**

Todos los pacientes con EICH aguda cutánea presentaron un exantema, con afectación de las palmas de las manos y plantas de los pies en 18 y 7 pacientes, respectivamente. Tres de los 7 pacientes con exantema plantar no tenían exantema palmar. Tan solo un paciente que desarrolló un EICH grado IV tuvo lesiones ampollosas y despegamiento cutáneo.

### 5.3. Análisis de la EICH crónica

#### 5.3.1. Características de los pacientes

En la Tabla 5.7 se muestran las características basales de los pacientes vivos después de 100 días desde el trasplante según el desarrollo de EICH crónica de cualquier grado. No se observaron diferencias significativas.

Tabla 5.7. Características de los pacientes según el desarrollo de EICH crónica.

| Variables                                      | No EICHc<br>N (%) | EICHc<br>N (%) | P    |
|------------------------------------------------|-------------------|----------------|------|
| <b>Número de pacientes &gt; 100 días vivos</b> | 34                | 78             |      |
| <b>Grupos de edad</b>                          |                   |                | 0,6  |
| ≤20                                            | 3 (9)             | 2 (3)          |      |
| 21 - 30                                        | 6 (18)            | 13 (17)        |      |
| 31 -40                                         | 7 (21)            | 17 (22)        |      |
| 41-50                                          | 7 (21)            | 22 (28)        |      |
| 51 - 60                                        | 8 (24)            | 21 (27)        |      |
| > 60                                           | 3 (9)             | 3 (4)          |      |
| <b>Sexo, n (%)</b>                             |                   |                | 0,3  |
| Hombre                                         | 24 (71)           | 45 (58)        |      |
| Mujer                                          | 10 (29)           | 33 (42)        |      |
| <b>Diagnóstico</b>                             |                   |                | 0,2  |
| LMA/SMD                                        | 21 (62)           | 44 (56)        |      |
| LLA                                            | 9 (27)            | 13 (17)        |      |
| Otros                                          | 4 (12)            | 21 (27)        |      |
| <b>Fase de enfermedad al TPH</b>               |                   |                | 0,8  |
| Precoz                                         | 14 (41)           | 38 (49)        |      |
| Intermedio                                     | 10 (29)           | 21 (27)        |      |
| Avanzado                                       | 10 (29)           | 19 (24)        |      |
| <b>Trasplante previo</b>                       |                   |                | 0,09 |
| No                                             | 32 (94)           | 56 (72)        |      |
| Autólogo                                       | 1 (3)             | 13 (17)        |      |
| Alogénico                                      | 1 (3)             | 9 (12)         |      |
| <b>HCT-CI</b>                                  |                   |                | 0,2  |
| 0                                              | 11 (32)           | 40 (51)        |      |
| 1-2                                            | 13 (38)           | 19 (24)        |      |
| ≥3                                             | 10 (29)           | 19 (24)        |      |
| <b>Estado serológico a CMV</b>                 |                   |                | 1    |
| Positivo                                       | 25 (74)           | 56 (72)        |      |
| Negativo                                       | 9 (26)            | 22 (28)        |      |

CMV: citomegalovirus; LMA/SMD: leucemia mieloide aguda/síndrome mielodisplásico; LLA: leucemia linfática aguda; HCT-CI: hematopoietic cell transplant comorbidity index. Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

### 5.3.2. Características de los trasplantes

En la Tabla 5.8 se muestran las características de los trasplantes en los pacientes vivos después de 100 días desde el trasplante según que desarrollasen una EICH crónica de cualquier grado. No se observaron diferencias significativas.

Tabla 5.8. Características de los trasplantes según el desarrollo de EICH crónica.

| Variables                                        | No EICHc<br>N (%) | EICHc<br>N (%) | P    |
|--------------------------------------------------|-------------------|----------------|------|
| <b>Número de pacientes &gt; 100 días vivos</b>   | 34                | 78             |      |
| <b>Incompatibilidad ABO</b>                      |                   |                | 0,2  |
| Mayor                                            | 2 (6)             | 12 (15)        |      |
| Menor                                            | 6 8(8)            | 19 (24)        |      |
| Ninguna                                          | 26 (77)           | 47 (60)        |      |
| <b>Emparejamiento de sexo donante – receptor</b> |                   |                | 0,6  |
| Hombre – Hombre                                  | 16 (47)           | 12 (41)        |      |
| Hombre – Mujer                                   | 5 (15)            | 18 (23)        |      |
| Mujer – Hombre                                   | 8 (24)            | 13 (17)        |      |
| Mujer – Mujer                                    | 5 (15)            | 15 (19)        |      |
| <b>Tipo de acondicionamiento</b>                 |                   |                | 0,2  |
| Basados en TBF                                   | 19 (56)           | 53 (68)        |      |
| Basados en BUFLU                                 | 10 (29)           | 21 (27)        |      |
| Otros                                            | 5 (15)            | 4 (5)          |      |
| <b>Esquema acondicionamiento</b>                 |                   |                | 0,05 |
| BUFLU - AMA                                      | 5 (15)            | 10 (13)        |      |
| BUFLUCY - AMA                                    | 1 (3)             | 2 (3)          |      |
| BUFLUCY - AIR                                    | 1 (3)             | 6 (8)          |      |
| TBF - AMA                                        | 17 (50)           | 36 (46)        |      |
| TBF - AIR                                        | 2 (6)             | 17 (22)        |      |
| Otros - AIR                                      | 8 (23)            | 7 (9)          |      |
| <b>Intensidad acondicionamiento</b>              |                   |                | 1    |
| AMA                                              | 21 (62)           | 49 (63)        |      |
| AIR                                              | 13 (38)           | 29 (37)        |      |
| <b>Tipos de profilaxis EICH</b>                  |                   |                |      |
| Basados en CSA                                   | 20 (59)           | 52 (67)        |      |
| Basados en CY-PT                                 | 14 (41)           | 26 (33)        |      |

|                                                     |          |          |     |
|-----------------------------------------------------|----------|----------|-----|
| <b>Esquemas basados en CSA</b>                      |          |          | 0,1 |
| CSA                                                 | 2 (6)    | 0        |     |
| CSA + MTX                                           | 12 (35)  | 35 (45)  |     |
| CSA + MFM                                           | 5 (15)   | 7 (9)    |     |
| CSA + PDN                                           | 1 (3)    | 10 (13)  |     |
| <b>Esquemas basados en CY-PT</b>                    |          |          |     |
| CY-PT + CSA + MFM                                   | 7 (21)   | 11 (14)  |     |
| CY-PT + Sir + MFM                                   | 7 (21)   | 15 (19)  |     |
| <b>Fuente de progenitores</b>                       |          |          | 0,4 |
| Médula ósea                                         | 0        | 1 (1)    |     |
| Sangre periférica                                   | 31 (91)  | 64 (82)  |     |
| Sangre cordón umbilical                             | 3 (9)    | 13 (17)  |     |
| <b>Células CD34<sup>+</sup>/kg x 10<sup>6</sup></b> |          |          | 0,2 |
| Mediana                                             | 5,9      | 7        |     |
| Extremos                                            | 0,1-15,6 | 2,2-12,5 |     |

TBF: tiopeta-busulfán-fludarabina; BUFLU: busulfán-fludarabina; BUFLUCY: busulfán-fludarabina-ciclofosfamida; AMA: acondicionamiento mieloablativo; AIR: acondicionamiento de intensidad reducida; CSA: ciclosporina A; CY-Pt. ciclofosfamida pos-trasplante; MTX: metotrexate; MFM: micofenolato mofetilo; PDN: prednisona; Sir: sirólimus.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

### 5.3.3. Grado global y por órganos

En la Tabla 5.9 se muestra la distribución de los episodios de EICH crónica leve, moderada y grave con la gradación por órganos en los 78 pacientes que desarrollaron una EICH crónica. La mediana de tiempo hasta el desarrollo de una EICH crónica fue de 145 días (1-362). Excluyendo los pacientes que habían recibido un TPH alogénico previo, la mediana fue de 146 días (44-362).



Tabla 5.9. Grado de EICH crónica global y por órganos.

| Localización y grado           | Total<br>N (%) | Leve<br>N (%) | Moderada<br>N (%) | Grave<br>N (%) |
|--------------------------------|----------------|---------------|-------------------|----------------|
| <b>Global</b>                  | 78 (100)       | 37 (47)       | 30 (39)           | 11 (14)        |
| <b>Estado clínico</b>          | 48 (62)        | 20 (54)       | 19 (61)           | 9 (82)         |
| 1                              | 24 (30)        | 12 (32)       | 10 (32)           | 2 (18)         |
| 2                              | 16 (20)        | 6 (16)        | 7 (23)            | 3 (27)         |
| 3                              | 8 (10)         | 2 (5)         | 2 (6)             | 4 (36)         |
| <b>Piel</b>                    | 34 (44)        | 12 (32)       | 16 (52)           | 6 (55)         |
| 1                              | 25 (31)        | 11 (30)       | 12 (39)           | 2 (18)         |
| 2                              | 5 (6)          | 1 (3)         | 4 (13)            | 0              |
| 3                              | 4 (5)          | 0             | 0                 | 4 (36)         |
| <b>Boca</b>                    | 60 (77)        | 26 (70)       | 25 (81)           | 9 (82)         |
| 1                              | 48 (61)        | 25 (68)       | 18 (58)           | 5 (45)         |
| 2                              | 8 (10)         | 1 (3)         | 7 (23)            | 0              |
| 3                              | 4 (5)          | 0             | 0                 | 4 (36)         |
| <b>Ojos</b>                    | 16 (21)        | 4 (11)        | 9 (29)            | 3 (27)         |
| 1                              | 15 (19)        | 4 (11)        | 9 (29)            | 2 (18)         |
| 2                              | 0              | 0             | 0                 | 0              |
| 3                              | 1 (1)          | 0             | 0                 | 1 (9)          |
| <b>Tracto gastrointestinal</b> | 32 (41)        | 11 (30)       | 15 (48)           | 6 (55)         |
| 1                              | 27 (34)        | 11 (30)       | 12 (39)           | 4 (36)         |
| 2                              | 3 (4)          | 0             | 3 (10)            | 0              |
| 3                              | 2 (3)          | 0             | 0                 | 2 (18)         |
| <b>Hígado</b>                  | 29 (37)        | 7 (19)        | 20 (65)           | 2 (18)         |
| 1                              | 10 (13)        | 7 (19)        | 3 (10)            | 0              |
| 2                              | 18 (23)        | 0             | 17 (55)           | 1 (9)          |
| 3                              | 1 (1)          | 0             | 0                 | 1 (9)          |
| <b>Pulmones</b>                | 7 (9)          | 0             | 3 (10)            | 4 (36)         |
| 1                              | 3 (4)          | 0             | 3 (10)            | 0              |
| 2                              | 1 (1)          | 0             | 0                 | 1 (9)          |
| 3                              | 3 (4)          | 0             | 0                 | 3 (27)         |
| <b>Locomotor</b>               | 3 (4)          | 0             | 1 (3)             | 2 (18)         |
| 1                              | 3 (4)          | 0             | 1 (3)             | 2 (18)         |
| 2                              | 0              | 0             | 0                 | 0              |
| 3                              | 0              | 0             | 0                 | 0              |
| <b>Tracto genital</b>          | 7 (9)          | 1 (3)         | 4 (13)            | 2 (18)         |
| 1                              | 6 (8)          | 1 (3)         | 3 (10)            | 2 (18)         |
| 2                              | 1 (1)          | 0             | 1 (3)             | 0              |
| 3                              | 0              | 0             | 0                 | 0              |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

Como muestra la Tabla 5.9, el sitio más frecuentemente involucrado en la EICH crónica fue la mucosa oral (60 de 78; 77%), seguido de la piel (34 de 78; 44%), tracto gastrointestinal (32 de 78; 41%) y el hígado (29 de 78; 37%) (Figura 5.25).

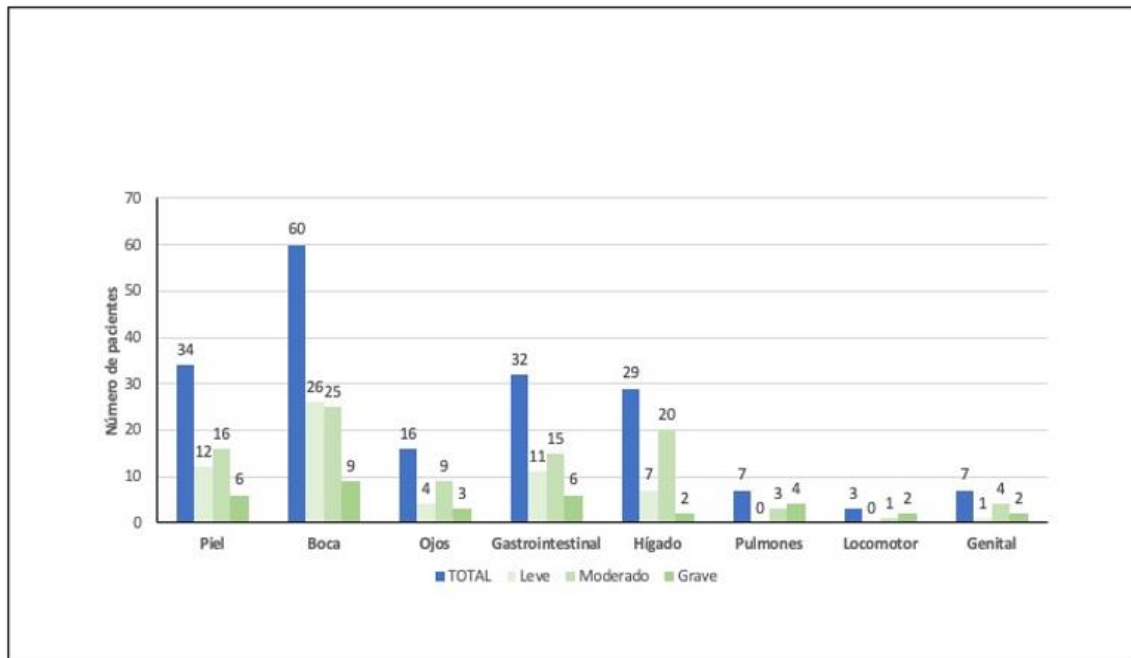


Figura 5.25. Distribución y grado de afectación de órganos en la EICH crónica.

En la Figura 5.26 se muestran los órganos afectados en la EICH crónica, siendo la afectación oral aislada ( $n = 10$ ; 13%) o combinada con otras localizaciones ( $n = 50$ ; 63%) la forma más común. La afectación cutánea, hepática y gastrointestinal aisladas fueron poco frecuentes ( $n = 2$ ,  $n = 3$  y  $n = 4$ , respectivamente). La afectación pulmonar y ocular aisladas fueron muy poco frecuentes ( $n = 1$  cada una).

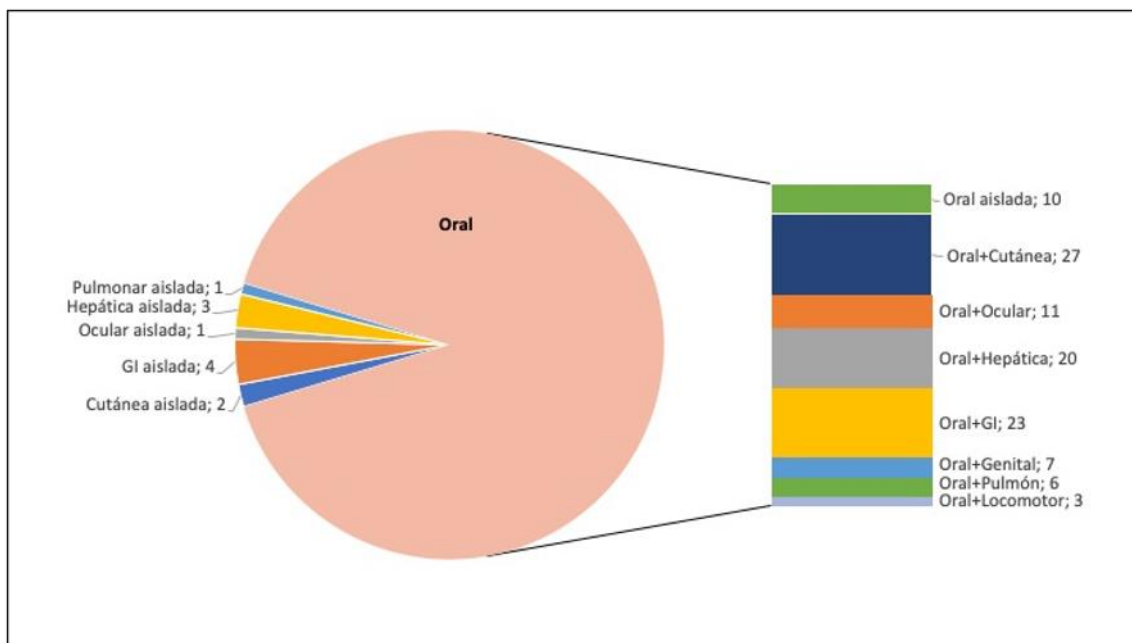


Figura 5.26. Órganos involucrados en la EICH crónica.

GI: gastrointestinal.

#### 5.3.4. Incidencia acumulada de EICH crónica

Una EICH crónica de cualquier grado, moderada-grave y grave se observó en 79, 42 y 11 pacientes respectivamente, siendo la incidencia acumulada a los 12 meses del 66% (IC 95%, 58-75) (Figura 5.27), 36% (IC 95%, 27-44) (Figura 5.28) y 10% (IC 95%, 5-16) (Figura 5.29), respectivamente.

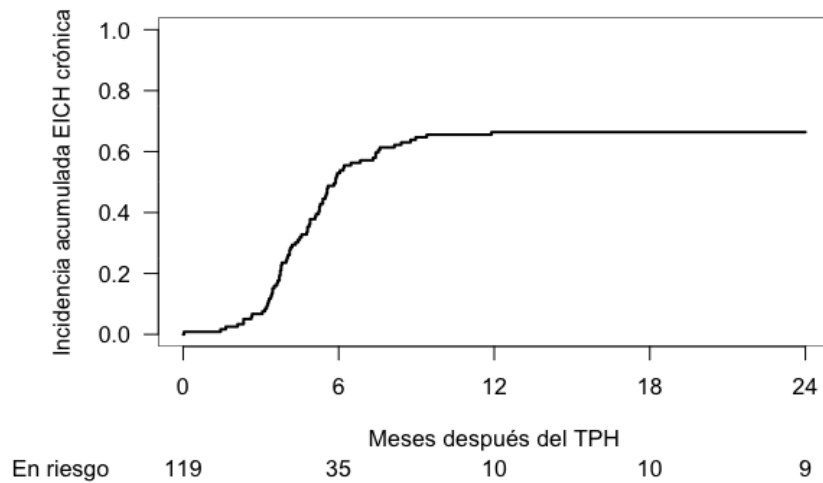


Figura 5.27. Incidencia acumulada de EICH crónica de cualquier grado.

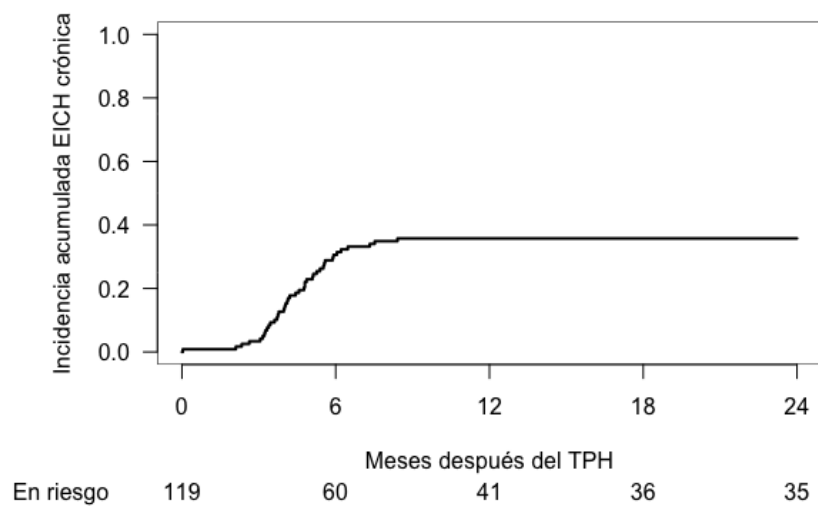


Figura 5.28. Incidencia acumulada de EICH crónica moderada-grave.

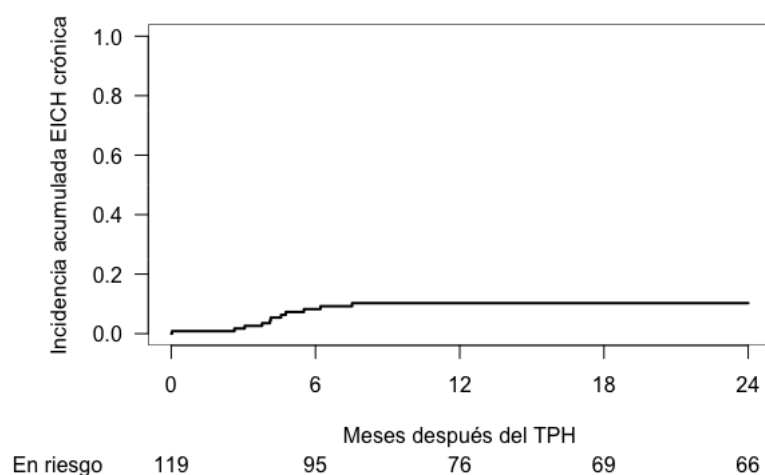


Figura 5.29. Incidencia acumulada de EICH crónica grave.

### 5.3.5. Factores de riesgo

La realización de un TPH previo fue la única variable significativa identificada en el análisis univariable de incidencia acumulada de EICH crónica de cualquier grado. La incidencia acumulada a 12 meses de EICH crónica en los pacientes que no recibieron un TPH previo fue 60% (IC 95%, 50-70), en los que recibieron un TPH autólogo 88% (IC 95%, 71-100) y un TPH alogénico 90% (IC 95%, 71-100) ( $P = 0,0002$ ) (Figura 5.30).

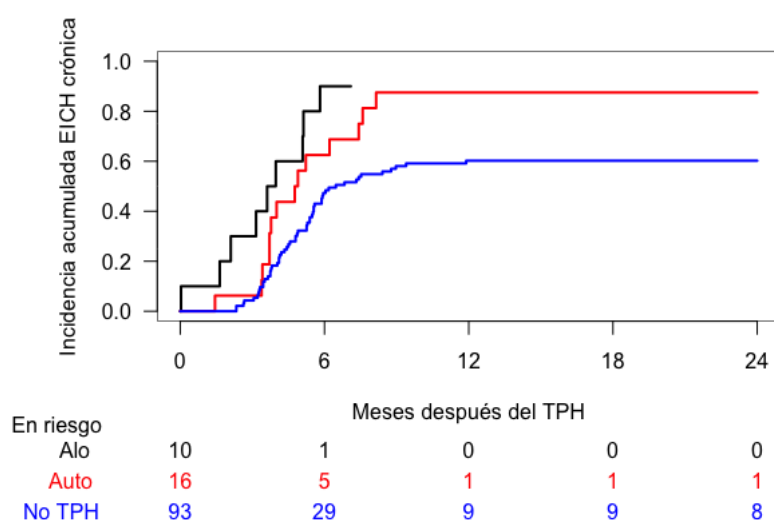


Figura 5.30. Incidencia acumulada de EICH crónica de cualquier grado según tipo de TPH previo.

Alo: trasplante alogénico; Auto: trasplante autólogo; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

A diferencia de lo observado en la EICH aguda, el tipo de TPH no tuvo un impacto significativo en la incidencia de EICH crónica. La incidencia acumulada a 12 meses de EICH crónica de cualquier grado según el tipo de TPH (DHI, DNE, haplo y SCU) fue respectivamente 72% (IC 95%, 70-84), 48% (IC 95%, 27-68), 63% (IC 95%, 45-81) y 75% (IC 95%, 54-96) ( $P = 0,2$ ) (Figura 5.31).

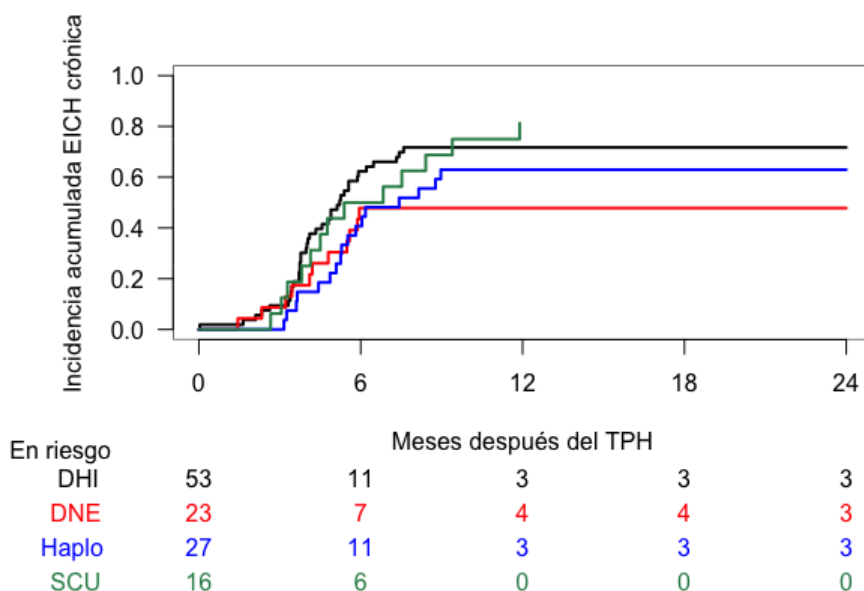


Figura 5.31. Incidencia acumulada de EICH crónica de cualquier grado según tipo de TPH.

DHI: donante hermano idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: haploidente; SCU: sangre de cordón umbilical.

La realización de un TPH previo fue la única variable significativa identificada en el análisis univariable de incidencia acumulada de EICH crónica moderada-grave. La incidencia acumulada a 12 meses de EICH crónica en los pacientes que no recibieron un TPH previo fue 31% (IC 95%, 22-41), en los que recibieron un TPH autólogo 40% (IC 95%, 15-65) y un TPH alogénico 70% (IC 95%, 42-98) ( $P = 0,01$ ) (Figura 5.32).

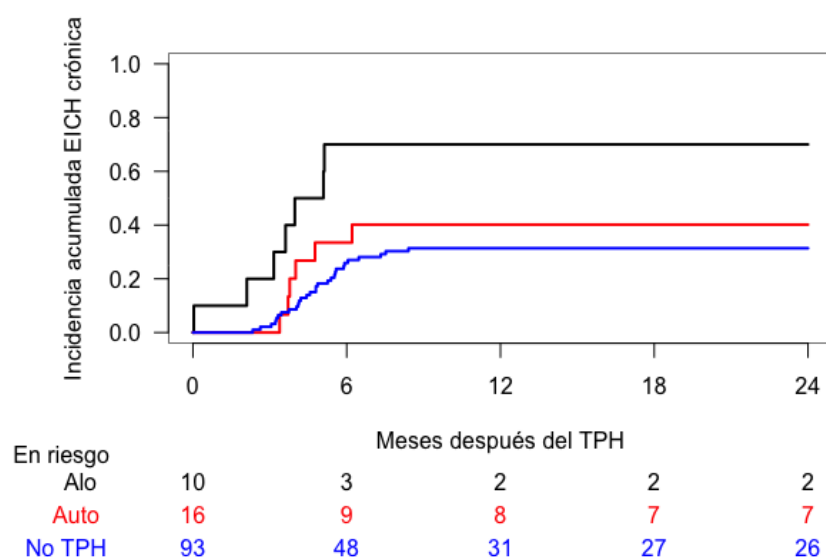


Figura 5.32. Incidencia acumulada de EICH crónica moderada-grave según tipo de TPH previo.

Alo: trasplante alogénico; Auto: trasplante autólogo; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

El tipo de TPH tampoco tuvo un impacto significativo en la incidencia de EICH crónica moderada-grave. La incidencia acumulada a 12 meses de EICH crónica de cualquier grado según el tipo de TPH (DHI, DNE, haplo y SCU) fue respectivamente 45% (IC 95%, 32-59), 18% (IC 95%, 2-35), 30% (IC 95%, 12-47) y 39% (IC 95%, 14-63) ( $P = 0,1$ ) (Figura 5.33).

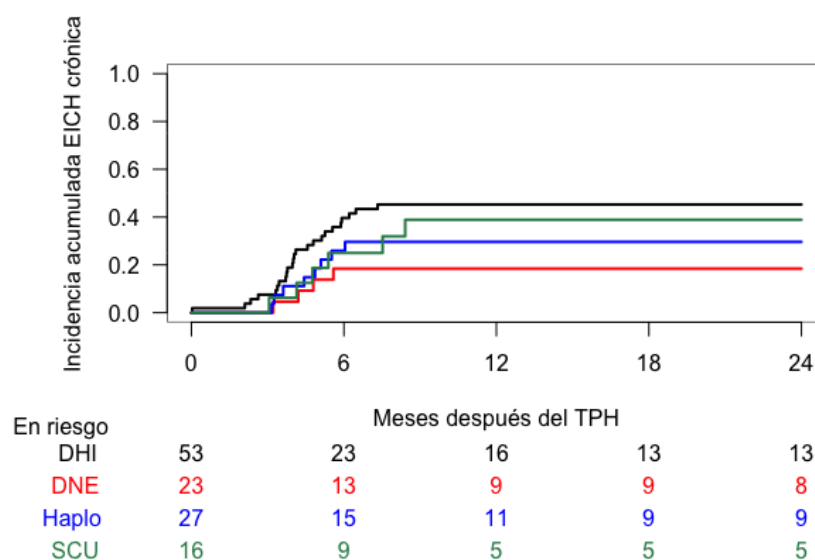


Figura 5.33. Incidencia acumulada de EICH crónica moderada-grave según tipo de TPH.

DHI: donante hermano idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; SCU: sangre de cordón umbilical.

El tipo de TPH fue el único factor de riesgo identificado en el análisis univariable de la incidencia acumulada de EICH crónica grave. La incidencia acumulada a 12 meses de EICH crónica grave según el tipo de TPH (DHI, DNE, haplo y SCU) fue respectivamente 12% (IC 95%, 3-21), 0%, 4% (IC 95%, 0-13) y 27% (IC 95%, 4-50) ( $P = 0,05$ ) (Figura 5.34).

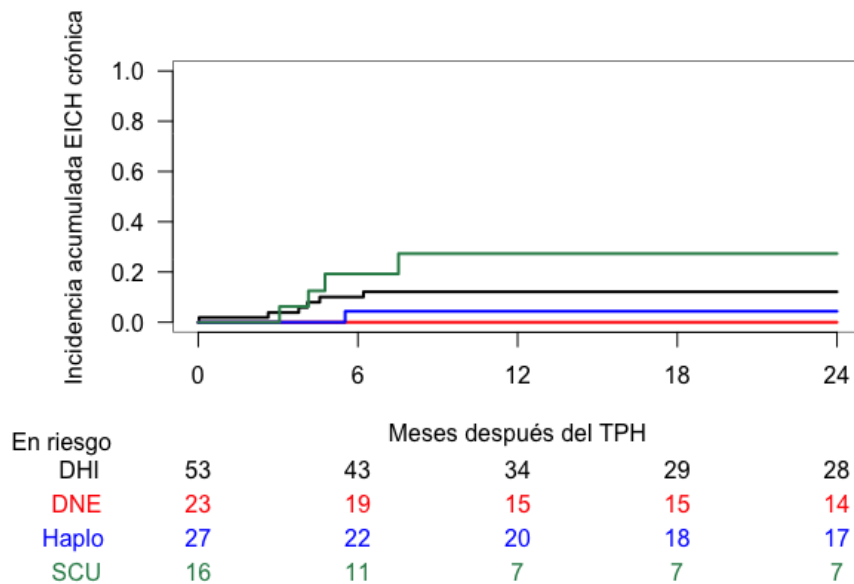


Figura 5.34. Incidencia acumulada de EICH crónica grave según tipo de TPH.

DHI: donante hermano idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: haploidéntico; SCU: sangre de cordón umbilical.

### 5.3.6. Formas clínicas de inicio de la EICH crónica

Como muestra la Tabla 5.10, 24 de 78 pacientes con EICH crónica fueron *de novo* (30%), es decir, no habían tenido EICH aguda previa, mientras que los 55 (70%) restantes habían tenido previamente una EICH aguda. De estos últimos, en la inmensa mayoría (46; 84%) la EICH crónica sobrevino tras un periodo de EICH aguda previamente resuelta (EICH crónica quiescente), mientras que en una proporción menor (9; 16%) la EICH crónica ocurrió tras una EICH aguda no resuelta (EICH crónica progresiva). De los 44 pacientes que no tuvieron EICH aguda, 24 (55%) desarrollaron una EICH crónica, que por definición es *de novo*.



Tabla 5.10. Relación entre EICH aguda y crónica según sus grados y formas de presentación.

|                               | No EICH crónica | EICH crónica | De novo | Quiescente | Progresiva |
|-------------------------------|-----------------|--------------|---------|------------|------------|
| <b>No EICH aguda</b> (n = 44) | 20 (45)         | 24 (55)      | 24 (55) | NA         | NA         |
| <b>EICH aguda</b> (n = 75)    | 20 (27)         | 55 (73)      | NA      | 46 (84)    | 9 (16)     |
| <b>Grado I</b> (n = 24)       | 8 (33)          | 16 (67)      | NA      | 14         | 2          |
| <b>Grado II</b> (n = 41)      | 5 (12)          | 36 (88)      | NA      | 31         | 5          |
| <b>Grado III</b> (n = 5)      | 4 (80)          | 1 (20)       | NA      | 0          | 1          |
| <b>Grado IV</b> (n = 5)       | 3 (60)          | 2 (40)       | NA      | 1          | 1          |

De novo: no precedida de EICH aguda; Quiescente: precedida de EICH aguda resuelta; Progresiva: transición de una EICH aguda; NA: no aplicable.

### 5.3.7. Tipo de lesiones cutáneas y orales

Como se muestra en la Tabla 5.11, las lesiones en piel y mucosas más frecuentemente observadas en los 78 pacientes con EICH crónica fueron las lesiones liquenoides orales (n = 54; 68%), seguido del exantema cutáneo (n = 23; 29%) y las úlceras orales (n = 10; 13%).

Tabla 5.11. Tipo de lesiones cutáneas y en mucosa oral.

| Localización       | Total N (%)    | Leve N (%)     | Moderada N (%) | Grave N (%)  |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|--------------|
| <b>Cutánea</b>     | <b>34 (42)</b> | <b>25 (31)</b> | <b>5 (6)</b>   | <b>4 (5)</b> |
| Exantema           | 23             | 10             | 9              | 4            |
| Liquen plano       | 2              | 0              | 2              | 0            |
| Hipopigmentación   | 2              | 1              | 0              | 1            |
| Hiperpigmentación  | 1              | 0              | 0              | 1            |
| Papulo-escamoso    | 3              | 2              | 0              | 1            |
| Poiquilodermia     | 4              | 1              | 2              | 1            |
| Queratosis pilaris | 3              | 1              | 2              | 0            |
| Descamación        | 3              | 0              | 2              | 1            |
| Eritema            | 2              | 0              | 1              | 1            |

|                        |                |                |               |              |
|------------------------|----------------|----------------|---------------|--------------|
| Eritrodermia           | 0              | 0              | 0             | 0            |
| Prurito                | 3              | 0              | 2             | 1            |
| Ungueal                | 4              | 2              | 1             | 1            |
| <b>Oral</b>            | <b>60 (75)</b> | <b>48 (60)</b> | <b>8 (10)</b> | <b>4 (5)</b> |
| Eritema                | 4              | 0              | 1             | 3            |
| Liquenoide             | 54             | 24             | 22            | 8            |
| Úlceras                | 10             | 1              | 6             | 3            |
| Hiperqueratosis        | 3              | 3              | 0             | 0            |
| Xerostomia             | 3              | 1              | 2             | 0            |
| Atrofia                | 2              | 0              | 2             | 0            |
| Urente                 | 2              | 0              | 2             | 0            |
| Limitación de apertura | 1              | 0              | 0             | 1            |

#### 5.4. Impacto de la EICH aguda y crónica en los resultados del TPH

La incidencia de EICH crónica, fue significativamente mayor en los pacientes que desarrollaron previamente EICH aguda grado II-IV ( $P = 0,04$ ) y en el límite de la significación la EICH aguda de cualquier grado ( $P = 0,05$ ), pero no alcanzó significación estadística en la EICH aguda grado III-IV (Tabla 5.12).

Tabla 5.12. Impacto de la EICH aguda en la EICH crónica.

| Resultado         | HR  | 95%IC   | P           |
|-------------------|-----|---------|-------------|
| EICH aguda        | 1,6 | 1,0-2,6 | <b>0,05</b> |
| EICH aguda II-IV  | 1,6 | 1,0-2,5 | <b>0,04</b> |
| EICH aguda III-IV | 0,5 | 0,2-1,6 | 0,2         |

HR: hazard ratio; IC: intervalo de confianza.

El desarrollo de una EICH aguda de cualquier grado mostró un impacto estadísticamente significativo en la MSR. La incidencia acumulada de MSR a los 12 meses en los pacientes que no desarrollaron EICH aguda fue 4,5% (IC 95%, 0,8-14), mientras que en los grados I, II y III-IV fue 13% (IC 95%, 3-19), 12% (IC 95%, 4,4-24) y 50% (IC 95%, 15-78), respectivamente ( $P = 0,009$ ) (Figura 5.35).

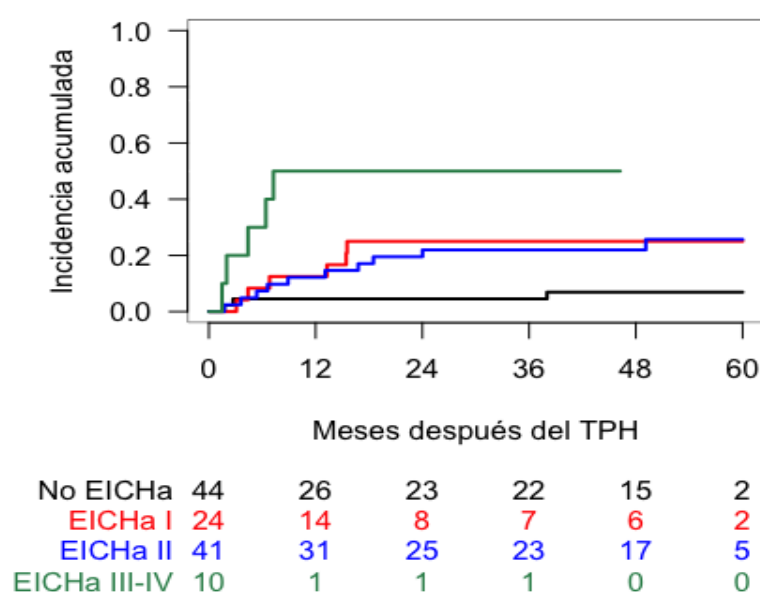


Figura 5.35. Incidencia acumulada de MSR según el grado de EICH aguda.

El desarrollo de una EICH crónica de cualquier grado no mostró un impacto estadísticamente significativo en la MSR. La incidencia acumulada de MSR a los 24 meses en los pacientes que no desarrollaron EICH crónica fue 25% (IC 95%, 13-39), mientras que en las formas leves, moderadas y graves fue 14% (IC 95%, 4,8-27), 6.5% (IC 95%, 1,1-19) y 36% (IC 95%, 9,9-64), respectivamente ( $P = 0,08$ ) (Figura 5.36).

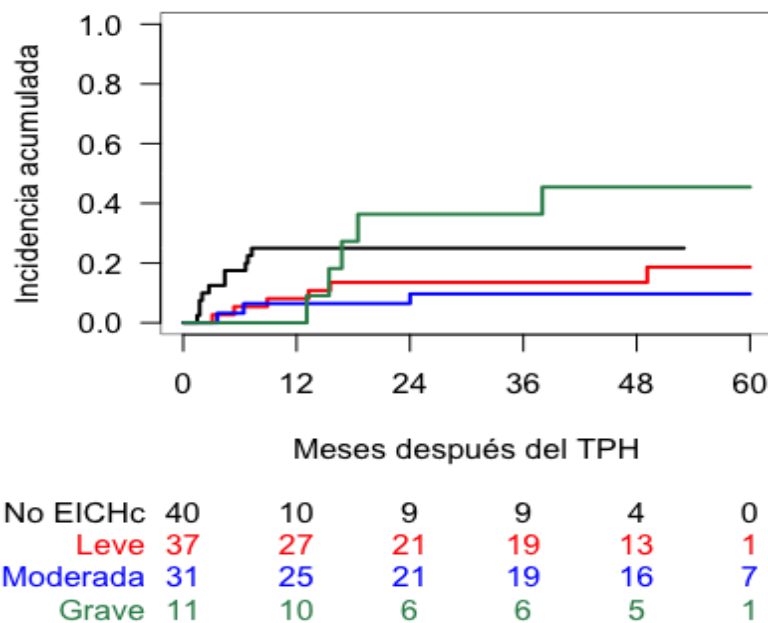


Figura 5.36. Incidencia acumulada de MSR según el grado de EICH crónica.

El desarrollo de una EICH aguda de cualquier grado no mostró un impacto estadísticamente significativo en la recaída. La incidencia acumulada de recaída a los 12 meses en los pacientes que no desarrollaron EICH aguda fue 36% (IC 95%, 22-50), mientras que en los grados I, II y III-IV fue 29% (IC 95%, 13-48), 12% (IC 95%, 4,4-24) y 40% (IC 95%, 9-71), respectivamente ( $P = 0,06$ ) (Figura 5.37).

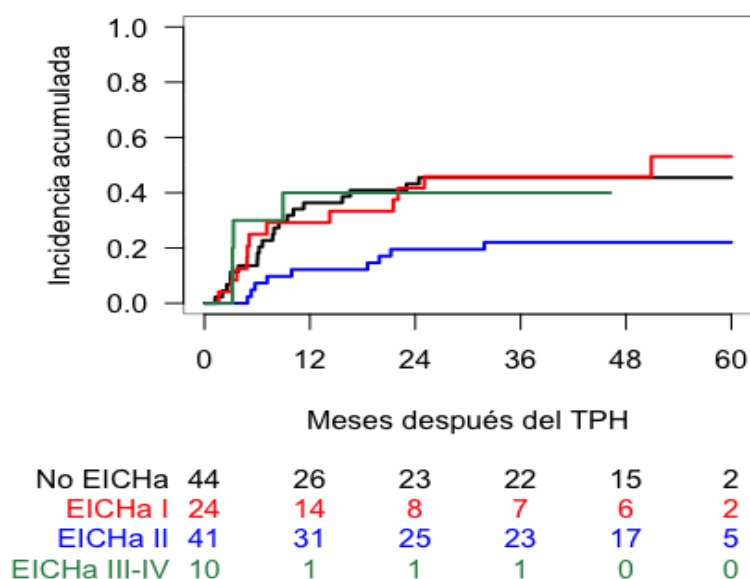


Figura 5.37. Incidencia acumulada de recaída según el grado de EICH aguda.

El desarrollo de una EICH crónica de cualquier grado mostró un impacto estadísticamente significativo en la recaída. La incidencia acumulada de recaída a los 24 meses en los pacientes que no desarrollaron EICH crónica fue 52% (IC 95%, 36-67), mientras que en las formas leves, moderadas y graves fue 30% (IC 95%, 16-45), 26% (IC 95%, 12-42) y 9,1% (IC 95%, 0,4-35), respectivamente ( $P = 0,009$ ) (Figura 5.38).

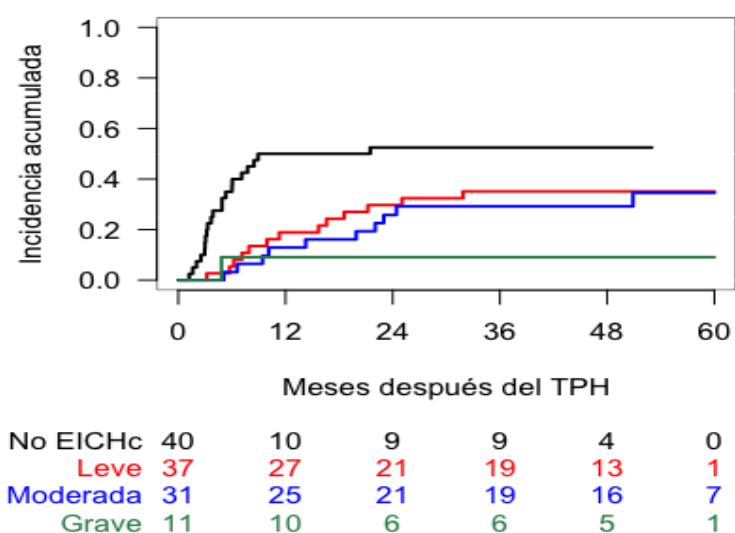


Figura 5.38. Incidencia acumulada de recaída según el grado de EICH crónica.

El desarrollo de una EICH aguda de cualquier grado no mostró un impacto estadísticamente significativo en la SG. La SG a los 12 meses en los pacientes que no desarrollaron EICH aguda fue 36% (IC 95%, 22-50), mientras que en los grados I, II y III-IV fue 29% (IC 95%, 13-48), 12% (IC 95%, 4,4-24) y 40% (IC 95%, 9-71), respectivamente ( $P = 0,06$ ) (Figura 5.39).

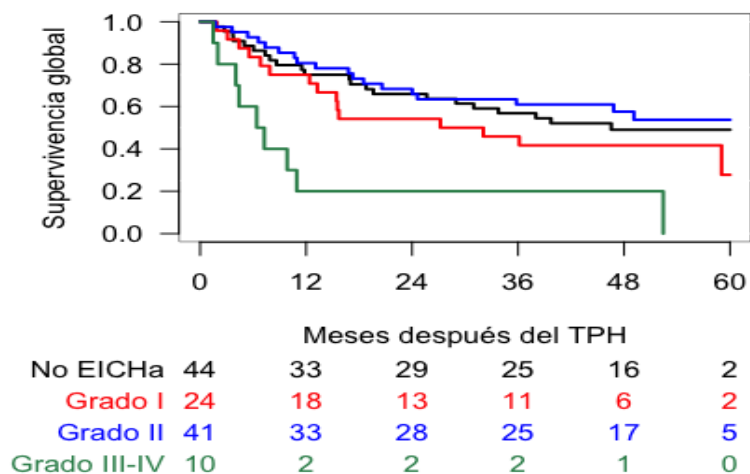


Figura 5.39. SG según el grado de EICH aguda.

El desarrollo de una EICH crónica de cualquier grado mostró un impacto estadísticamente significativo en la recaída. La incidencia acumulada de recaída a los 24 meses en los pacientes que no desarrollaron EICH crónica fue 52% (IC 95%, 36-67), mientras que en las formas leves, moderadas y graves fue 30% (IC 95%, 16-45), 26% (IC 95%, 12-42) y 9,1% (IC 95%, 0,4-35), respectivamente ( $P = 0,009$ ) (Figura 5.40).

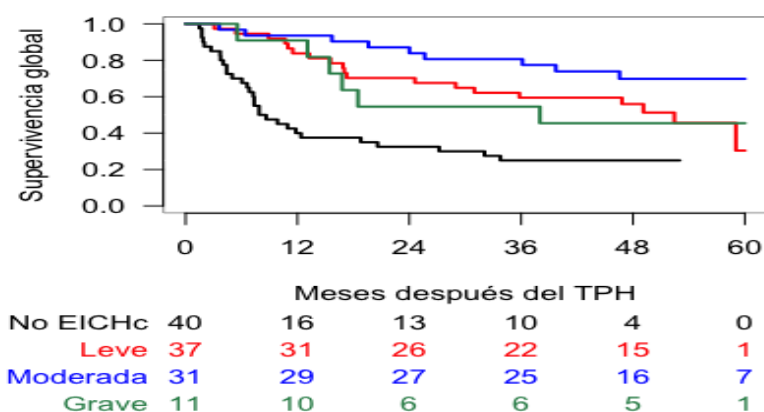


Figura 5.40. SG según el grado de EICH crónica.

## 5.5. Características histopatológicas de las biopsias de piel en la EICH aguda, crónica y toxicodermias

### 5.5.1. En la epidermis

En la Tabla 5.13 se muestran los rasgos histopatológicos observados en la epidermis de los pacientes con afectación cutánea por EICH aguda, EICH crónica o toxicodermias. En la comparación de mayor interés clínico, en la EICH aguda encontramos una incidencia mayor de atrofia, queratinocitos atípicos, y engrosamiento de la lámina basal ( $P = 0,02$ ,  $P = 0,03$  y  $P = 0,009$ , respectivamente), así como menor incidencia de exocitosis de eosinófilos ( $P = 0,02$ ) comparado con las toxicodermias.

Tabla 5.13. Rasgos histológicos en la epidermis de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias.

| Hallazgo histológico              | EICHa<br>N = 56 (%) | EICHc<br>N = 15 (%) | TD<br>N = 20 (%) | EICHa<br>vs.<br>EICHc | EICHa<br>vs.<br>TD | EICHc<br>vs.<br>TD |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Grosor</b>                     |                     |                     |                  | <b>0,001</b>          | <b>0,02</b>        |                    |
| Normal                            | 20 (36)             | 5 (39)              | 8 (40)           |                       |                    |                    |
| Atrófico                          | 32 (57)             | 2 (15)              | 6 (30)           |                       |                    |                    |
| Acantosis                         | 4 (7)               | 6 (46)              | 6 (30)           |                       |                    |                    |
| <b>Hiperqueratosis</b>            |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| Sí                                | 45 (80)             | 11 (73)             | 15 (75)          |                       |                    |                    |
| No                                | 11 (20)             | 4 (27)              | 5 (25)           |                       |                    |                    |
| <b>Paraqueratosis</b>             |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                | 48 (86)             | 9 (69)              | 18 (90)          |                       |                    |                    |
| Focal                             | 8 (14)              | 4 (31)              | 1 (5)            |                       |                    |                    |
| Extenso                           | 0                   | 0                   | 1 (5)            |                       |                    |                    |
| <b>Vacuolización basal</b>        |                     |                     |                  | <b>0,004</b>          |                    |                    |
| No                                | 4 (7)               | 1 (8)               | 3 (15)           |                       |                    |                    |
| Focal                             | 36 (64)             | 3 (23)              | 10 (50)          |                       |                    |                    |
| Extenso                           | 13 (23)             | 4 (31)              | 3 (15)           |                       |                    |                    |
| Hendidura subepidérmica           | 3 (5)               | 5 (39)              | 4 (20)           |                       |                    |                    |
| <b>Queratinocitos apoptóticos</b> |                     |                     |                  |                       | <b>0,07</b>        | <b>0,002</b>       |
| Ninguno                           | 22 (40)             | 2 (15)              | 13 (65)          |                       |                    |                    |

|                                   |          |          |          |             |              |             |
|-----------------------------------|----------|----------|----------|-------------|--------------|-------------|
| 1/10x                             | 18 (33)  | 4 (31)   | 6 (30)   |             |              |             |
| > 1/10x                           | 15 (27)  | 7 (54)   | 1 (5)    |             |              |             |
| <b>Localización apoptosis</b>     |          |          |          |             |              |             |
| Basal                             | 16 (47)  | 4 (36)   | 3 (43)   |             |              |             |
| Media                             | 9 (27)   | 2 (18)   | 3 (43)   |             |              |             |
| Alta                              | 9 (27)   | 5 (46)   | 1 (14)   |             |              |             |
| <b>Espongiosis</b>                |          |          |          |             |              |             |
| No                                | 18 (32)  | 5 (39)   | 7 (35)   |             |              |             |
| Focal                             | 31 (55)  | 8 (62)   | 8 (40)   |             |              |             |
| Moderado                          | 5 (9)    | 0        | 4 (20)   |             |              |             |
| Abundante                         | 2 (4)    | 0        | 1 (5)    |             |              |             |
| <b>Queratinocitos atípicos</b>    |          |          |          |             | <b>0,03</b>  |             |
| Sí                                | 37 (66)  | 8 (53)   | 7 (35)   |             |              |             |
| No                                | 19 (34)  | 7 (47)   | 13 (65)  |             |              |             |
| <b>Exocitosis linfocitos</b>      |          |          |          | <b>0,02</b> |              | <b>0,01</b> |
| No                                | 18 (32)  | 0        | 6 (30)   |             |              |             |
| Escaso                            | 29 (52)  | 7 (54)   | 12 (60)  |             |              |             |
| Moderado                          | 8 (14)   | 6 (46)   | 2 (10)   |             |              |             |
| Abundante                         | 1 (2)    | 0        | 0        |             |              |             |
| <b>Exocitosis plasmáticas</b>     |          |          |          |             |              |             |
| No                                | 56 (100) | 13 (100) | 19 (95)  |             |              |             |
| Escaso                            | 0        | 0        | 1 (5)    |             |              |             |
| Moderado/Abundante                | 0        | 0        | 0        |             |              |             |
| <b>Exocitosis eosinófilos</b>     |          |          |          |             | <b>0,02</b>  |             |
| No                                | 56 (100) | 13 (100) | 17 (85)  |             |              |             |
| Escaso                            | 0        | 0        | 1 (5)    |             |              |             |
| Moderado                          | 0        | 0        | 2 (10)   |             |              |             |
| Abundante                         | 0        | 0        | 0        |             |              |             |
| <b>Exocitosis neutrófilos</b>     |          |          |          |             |              | <b>0,07</b> |
| No                                | 49 (88)  | 9 (69)   | 19 (95)  |             |              |             |
| Escaso                            | 4 (7)    | 4 (31)   | 1 (5)    |             |              |             |
| Moderado                          | 2 (4)    | 0        | 0        |             |              |             |
| Abundante                         | 1 (2)    | 0        | 0        |             |              |             |
| <b>Exocitosis mastocitos</b>      |          |          |          |             |              |             |
| No                                | 55 (100) | 13 (100) | 19 (100) |             |              |             |
| Escaso                            | 0        | 0        | 0        |             |              |             |
| Moderado/Abundante                | 0        | 0        | 0        |             |              |             |
| <b>Engrosamiento lámina basal</b> |          |          |          |             | <b>0,009</b> |             |
| Sí                                | 32 (57)  | 6 (40)   | 4 (20)   |             |              |             |
| No                                | 24 (43)  | 9 (60)   | 16 (80)  |             |              |             |

TD: toxicodermias.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.



### 5.5.2. En la dermis papilar

En la Tabla 5.14 se muestran los rasgos histopatológicos observados en la dermis papilar de los pacientes con afectación cutánea por EICH aguda, EICH crónica o toxicodermias. De mayor interés clínico, en la EICH aguda encontramos una incidencia menor de melanófagos, exocitosis de linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos ( $P = 0,02$ ,  $P = 0,005$ ,  $P = 0,05$  y  $P < 0,001$ , respectivamente), así como menor infiltración perivascular y en banda ( $P = 0,006$  y  $P = 0,03$ , respectivamente) comparado con las toxicodermias.

Tabla 5.14. Rasgos histológicos en la dermis papilar de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias.

| Hallazgo histológico          | EICHa<br>N = 56 (%) | EICHc<br>N = 15 (%) | TD<br>N = 20 (%) | EICHa<br>vs.<br>EICHc | EICHa<br>vs.<br>TD | EICHc<br>vs.<br>TD |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Elastosis solar</b>        |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| Sí                            | 43 (77)             | 8 (53)              | 15 (75)          |                       |                    |                    |
| No                            | 13 (23)             | 7 (47)              | 5 (25)           |                       |                    |                    |
| <b>Esclerosis colágena</b>    |                     |                     |                  | <b>0,04</b>           |                    |                    |
| No                            | 2 (4)               | 1 (8)               | 4 (20)           |                       |                    |                    |
| Escaso                        | 32 (57)             | 2 (15)              | 10 (50)          |                       |                    |                    |
| Moderado                      | 18 (32)             | 7 (54)              | 5 (25)           |                       |                    |                    |
| Abundante                     | 4 (7)               | 3 (23)              | 1 (5)            |                       |                    |                    |
| <b>Melanófagos</b>            |                     |                     |                  |                       | <b>0,02</b>        | <b>0,01</b>        |
| No                            | 41 (73)             | 13 (87)             | 8 (40)           |                       |                    |                    |
| Si                            | 15 (27)             | 2 (13)              | 12 (60)          |                       |                    |                    |
| <b>Inflamación</b>            |                     |                     |                  | <b>0,001</b>          | 0,1                |                    |
| No                            | 2 (4)               | 0                   | 1 (5)            |                       |                    |                    |
| Localizada                    | 44 (83)             | 5 (39)              | 12 (60)          |                       |                    |                    |
| Generalizada                  | 7 (13)              | 8 (62)              | 7 (35)           |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis linfocitos</b>  |                     |                     |                  | <b>0,05</b>           | <b>0,005</b>       |                    |
| No                            | 3 (5)               | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| Escaso                        | 40 (71)             | 5 (39)              | 7 (35)           |                       |                    |                    |
| Moderado                      | 11 (20)             | 6 (46)              | 9 (45)           |                       |                    |                    |
| Abundante                     | 2 (4)               | 2 (15)              | 4 (20)           |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis plasmáticas</b> |                     |                     |                  |                       | <b>0,05</b>        |                    |

|                                |         |         |         |                  |                  |      |
|--------------------------------|---------|---------|---------|------------------|------------------|------|
| No                             | 51 (91) | 11 (85) | 15 (75) |                  |                  |      |
| Escaso                         | 5 (9)   | 2 (15)  | 3 (15)  |                  |                  |      |
| Moderado                       | 0       | 0       | 2 (10)  |                  |                  |      |
| Abundante                      | 0       | 0       | 0       |                  |                  |      |
| <b>Exocitosis eosinófilos</b>  |         |         |         |                  | <b>&lt;0,001</b> |      |
| No                             | 50 (89) | 8 (62)  | 8 (40)  |                  |                  |      |
| Escaso                         | 4 (7)   | 5 (39)  | 9 (45)  |                  |                  |      |
| Moderado                       | 2 (4)   | 0       | 3 (15)  |                  |                  |      |
| Abundante                      | 0       | 0       | 0       |                  |                  |      |
| <b>Exocitosis neutrófilos</b>  |         |         |         |                  |                  |      |
| No                             | 41 (73) | 9 (70)  | 14 (70) |                  |                  |      |
| Escaso                         | 11 (20) | 4 (31)  | 3 (15)  |                  |                  |      |
| Moderado                       | 2 (4)   | 0       | 2 (10)  |                  |                  |      |
| Abundante                      | 2 (4)   | 0       | 1 (5)   |                  |                  |      |
| <b>Exocitosis mastocitos</b>   |         |         |         |                  |                  |      |
| No                             | 48 (86) | 12 (92) | 17 (85) |                  |                  |      |
| Escaso                         | 8 (14)  | 1 (8)   | 2 (10)  |                  |                  |      |
| Moderado                       | 0       | 0       | 1 (5)   |                  |                  |      |
| Abundante                      | 0       | 0       | 0       |                  |                  |      |
| <b>Infiltrado perivascular</b> |         |         |         |                  | <b>0,006</b>     | 0,08 |
| No                             | 12 (21) | 3 (23)  | 0       |                  |                  |      |
| Escaso                         | 29 (53) | 6 (46)  | 7 (35)  |                  |                  |      |
| Moderado                       | 13 (23) | 3 (23)  | 9 (45)  |                  |                  |      |
| Abundante                      | 2 (4)   | 1 (8)   | 4 (20)  |                  |                  |      |
| <b>Infiltrado perianexial</b>  |         |         |         | 0,07             |                  |      |
| No                             | 51 (91) | 9 (69)  | 19 (95) |                  |                  |      |
| Escaso                         | 4 (7)   | 2 (15)  | 0       |                  |                  |      |
| Moderado                       | 1 (2)   | 1 (8)   | 1 (5)   |                  |                  |      |
| Abundante                      | 0       | 1 (8)   | 0       |                  |                  |      |
| <b>Infiltrado intersticial</b> |         |         |         |                  |                  |      |
| No                             | 25 (45) | 7 (54)  | 11 (55) |                  |                  |      |
| Escaso                         | 25 (45) | 4 (31)  | 4 (20)  |                  |                  |      |
| Moderado                       |         | 1 (8)   | 4 (20)  |                  |                  |      |
| Abundante                      |         | 1 (8)   | 1 (5)   |                  |                  |      |
| <b>Infiltrado en banda</b>     |         |         |         | <b>&lt;0,001</b> | <b>0,03</b>      | 0,1  |
| No                             | 54 (98) | 7 (54)  | 17 (85) |                  |                  |      |
| Escaso                         | 0       | 2 (15)  | 2 (10)  |                  |                  |      |
| Moderado                       | 0       | 3 (23)  | 0       |                  |                  |      |
| Abundante                      | 0       | 1 (8)   | 1 (5)   |                  |                  |      |

TD: toxicodermias.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

### 5.5.3. En la dermis reticular

En la Tabla 5.15 se muestran los rasgos histopatológicos observados en la dermis reticular de los pacientes con afectación cutánea por EICH aguda, EICH crónica o toxicodermias. De mayor interés clínico, en la EICH aguda encontramos una ausencia mayor de inflamación, exocitosis de linfocitos, exocitosis de células plasmáticas, exocitosis de eosinófilos e infiltración perivascular comparado con las toxicodermias ( $P = 0,03$ ,  $P = 0,03$ ,  $P = 0,04$ ,  $P = 0,004$  y  $P = 0,004$ , respectivamente).

Tabla 5.15. Rasgos histológicos en la dermis reticular de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias.

| Hallazgo histológico                | EICHa<br>N = 56 (%) | EICHc<br>N = 15 (%) | TD<br>N = 20 (%) | EICHa<br>vs.<br>EICHc | EICHa<br>vs.<br>TD | EICHc<br>vs.<br>TD |
|-------------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Esclerosis colágena profunda</b> |                     |                     |                  |                       |                    | <b>0,01</b>        |
| No                                  | 8 (15)              | 0                   | 8 (42)           |                       |                    |                    |
| Escaso                              | 22 (40)             | 5 (39)              | 8 (42)           |                       |                    |                    |
| Moderado                            | 20 (36)             | 7 (54)              | 3 (16)           |                       |                    |                    |
| Abundante                           | 5 (9)               | 1 (8)               | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Aumento del espesor</b>          |                     |                     |                  |                       | 0,08               | 0,1                |
| Sí                                  | 11 (20)             | 3 (20)              | 0                |                       |                    |                    |
| No                                  | 45 (80)             | 12 (80)             | 20 (100)         |                       |                    |                    |
| <b>Inflamación</b>                  |                     |                     |                  |                       | <b>0,03</b>        |                    |
| No                                  | 21 (43)             | 4 (31)              | 3 (15)           |                       |                    |                    |
| Localizada                          | 28 (57)             | 8 (62)              | 16 (80)          |                       |                    |                    |
| Generalizada                        | 0                   | 1 (8)               | 1 (5)            |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis linfocitos</b>        |                     |                     |                  |                       | <b>0,03</b>        |                    |
| No                                  | 23 (43)             | 4 (31)              | 5 (25)           |                       |                    |                    |
| Escaso                              | 31 (57)             | 8 (62)              | 12 (60)          |                       |                    |                    |
| Moderado                            | 0                   | 1 (7)               | 2 (10)           |                       |                    |                    |
| Abundante                           | 0                   | 0                   | 1 (5)            |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis plasmáticas</b>       |                     |                     |                  |                       | <b>0,04</b>        |                    |
| No                                  | 52 (96)             | 13 (100)            | 16 (80)          |                       |                    |                    |
| Escaso                              | 2 (4)               | 0                   | 3 (15)           |                       |                    |                    |
| Moderado                            | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| Abundante                           | 0                   | 0                   | 1 (5)            |                       |                    |                    |

|                                |         |          |         |  |              |  |
|--------------------------------|---------|----------|---------|--|--------------|--|
| <b>Exocitosis eosinófilos</b>  |         |          |         |  | <b>0,004</b> |  |
| No                             | 53 (98) | 13 (100) | 16 (80) |  |              |  |
| Escaso                         | 0       | 0        | 4 (20)  |  |              |  |
| Moderado                       | 1 (2)   | 0        | 0       |  |              |  |
| Abundante                      | 0       | 0        | 0       |  |              |  |
| <b>Exocitosis neutrófilos</b>  |         |          |         |  |              |  |
| No                             | 50 (93) | 12 (92)  | 17 (90) |  |              |  |
| Escaso                         | 4 (7)   | 1 (8)    | 2 (11)  |  |              |  |
| Moderado/Abundante             | 0       | 0        | 0       |  |              |  |
| <b>Exocitosis mastocitos</b>   |         |          |         |  |              |  |
| No                             | 45 (83) | 10 (77)  | 16 (80) |  |              |  |
| Escaso                         | 9 (17)  | 3 (23)   | 4 (20)  |  |              |  |
| Moderado/Abundante             | 0       | 0        | 0       |  |              |  |
| <b>Infiltrado perivascular</b> |         |          |         |  | <b>0,004</b> |  |
| No                             | 41 (76) | 9 (69)   | 8 (40)  |  |              |  |
| Escaso                         | 13 (24) | 3 (23)   | 9 (45)  |  |              |  |
| Moderado                       | 0       | 1 (8)    | 2 (10)  |  |              |  |
| Abundante                      | 0       | 0        | 1 (5)   |  |              |  |
| <b>Infiltrado perianexial</b>  |         |          |         |  |              |  |
| No                             | 52 (96) | 12 (92)  | 18 (90) |  |              |  |
| Escaso                         | 2 (4)   | 1 (8)    | 1 (5)   |  |              |  |
| Moderado                       | 0       | 0        | 1 (5)   |  |              |  |
| Abundante                      | 0       | 0        | 0       |  |              |  |
| <b>Infiltrado intersticial</b> |         |          |         |  |              |  |
| No                             | 31 (59) | 8 (62)   | 14 (70) |  |              |  |
| Escaso                         | 22 (42) | 5 (39)   | 6 (30)  |  |              |  |
| Moderado/Abundante             | 0       | 0        | 0       |  |              |  |

TD: toxicodermias.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

#### 5.5.4. En el tejido celular subcutáneo

En la Tabla 5.16 se muestran los rasgos histopatológicos observados en el tejido celular subcutáneo de los pacientes con afectación cutánea por EICH aguda, EICH crónica o toxicodermias. No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las comparaciones.

Tabla 5.16. Rasgos histológicos en tejido subcutáneo de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias.

| Hallazgo histológico               | EICHa<br>N = 56 (%) | EICHc<br>N = 15 (%) | TD<br>N = 20 (%) | EICHa<br>vs.<br>EICHc | EICHa<br>vs.<br>TD | EICHc<br>vs.<br>TD |
|------------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Tejido subcutáneo valorable</b> |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| Sí                                 | 35 (63)             | 9 (60)              | 16 (80)          |                       |                    |                    |
| <b>Inflamación</b>                 |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                 | 21 (62)             | 5 (56)              | 7 (47)           |                       |                    |                    |
| Localizada                         | 13 (38)             | 4 (44)              | 8 (53)           |                       |                    |                    |
| Generalizada                       | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis linfocitos</b>       |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                 | 17 (47)             | 4 (44)              | 6 (36)           |                       |                    |                    |
| Escaso                             | 19 (53)             | 5 (56)              | 10 (63)          |                       |                    |                    |
| Moderado/Abundante                 | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis plasmáticas</b>      |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                 | 36 (100)            | 9 (100)             | 16 (100)         |                       |                    |                    |
| Escaso/Moderado/Abundante          | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis eosinófilos</b>      |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                 | 36 (100)            | 8 (89)              | 15 (94)          |                       |                    |                    |
| Escaso                             | 0                   | 1 (11)              | 1 (6)            |                       |                    |                    |
| Moderado/Abundante                 | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis neutrófilos</b>      |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                 | 33 (92)             | 8 (89)              | 13 (81)          |                       |                    |                    |
| Escaso                             | 2 (6)               | 0                   | 3 (19)           |                       |                    |                    |
| Moderado                           | 0                   | 1 (11)              | 0                |                       |                    |                    |
| Abundante                          | 1 (3)               | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis mastocitos</b>       |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                 | 34 (94)             | 9 (100)             | 14 (88)          |                       |                    |                    |
| Escaso                             | 2 (6)               | 0                   | 2 (13)           |                       |                    |                    |

|                              |          |         |          |  |  |  |
|------------------------------|----------|---------|----------|--|--|--|
| Moderado/Abundante           | 0        | 0       | 0        |  |  |  |
| <b>Infiltrado septal</b>     |          |         |          |  |  |  |
| No                           | 32 (89)  | 9 (100) | 15 (94)  |  |  |  |
| Escaso                       | 4 (11)   | 0       | 1 (6)    |  |  |  |
| Moderado/Abundante           | 0        | 0       | 0        |  |  |  |
| <b>Infiltrado lobulillar</b> |          |         |          |  |  |  |
| No                           | 19 (53)  | 4 (44)  | 6 (38)   |  |  |  |
| Escaso                       | 16 (44)  | 5 (56)  | 9 (56)   |  |  |  |
| Moderado                     | 0        | 0       | 1 (6)    |  |  |  |
| Abundante                    | 1 (3)    | 0       | 0        |  |  |  |
| <b>Infiltrado mixto</b>      |          |         |          |  |  |  |
| No                           | 36 (100) | 9 (100) | 16 (100) |  |  |  |
| Escaso/Moderado/Abundante    | 0        | 0       | 0        |  |  |  |

TD: toxicodermias.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

### 5.5.5. En el epitelio folicular

En la Tabla 5.17 se muestran los rasgos histopatológicos observados en el epitelio folicular de los pacientes con afectación cutánea por EICH aguda, EICH crónica o toxicodermias. No se observaron diferencias significativas en ninguna de las comparaciones, salvo un menor número de biopsias con epitelio folicular valorable en la EICH aguda y la EICH crónica comparado con las toxicodermias ( $P = 0,03$  y  $P = 0,02$ , respectivamente).

Tabla 5.17. Rasgos histológicos en epitelio folicular de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias.

| Hallazgo histológico                | EICHa<br>N = 56 (%) | EICHc<br>N = 15 (%) | TD<br>N = 20 (%) | EICHa<br>vs.<br>EICHc | EICHa<br>vs.<br>TD | EICHc<br>vs.<br>TD |
|-------------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Epitelio folicular valorable</b> |                     |                     |                  |                       | <b>0,03</b>        | <b>0,02</b>        |
| Sí                                  | 34 (61)             | 7 (47)              | 18 (90)          |                       |                    |                    |
| <b>Vacuolización basal</b>          |                     |                     |                  | 0,07                  |                    |                    |
| No                                  | 6 (17)              | 1 (14)              | 4 (22)           |                       |                    |                    |
| Focal                               | 22 (61)             | 2 (29)              | 10 (56)          |                       |                    |                    |
| Extenso                             | 5 (14)              | 4 (57)              | 3 (17)           |                       |                    |                    |
| Hendidura subepidérmica             | 3 (8)               | 0                   | 1 (6)            |                       |                    |                    |

|                                   |          |         |          |  |  |  |
|-----------------------------------|----------|---------|----------|--|--|--|
| <b>Queratinocitos apoptóticos</b> |          |         |          |  |  |  |
| No                                | 28 (78)  | 5 (71)  | 17 (94)  |  |  |  |
| Escaso                            | 6 (17)   | 1 (14)  | 1 (6)    |  |  |  |
| Disperso                          | 2 (6)    | 1 (14)  | 0        |  |  |  |
| Abundante                         | 0        | 0       | 0        |  |  |  |
| <b>Exocitosis linfocitos</b>      |          |         |          |  |  |  |
| No                                | 12 (33)  | 1 (14)  | 7 (39)   |  |  |  |
| Escaso                            | 17 (47)  | 4 (57)  | 9 (50)   |  |  |  |
| Moderado                          | 6 (17)   | 2 (28)  | 2 (11)   |  |  |  |
| Abundante                         | 1 (3)    | 0       | 0        |  |  |  |
| <b>Exocitosis plasmáticas</b>     |          |         |          |  |  |  |
| No                                | 36 (100) | 7 (100) | 18 (100) |  |  |  |
| Escaso/Moderado/Abundante         | 0        | 0       | 0        |  |  |  |
| <b>Exocitosis eosinófilos</b>     |          |         |          |  |  |  |
| No                                | 36 (100) | 7 (100) | 17 (94)  |  |  |  |
| Escaso                            | 0        | 0       | 1        |  |  |  |
| Moderado/Abundante                | 0        | 0       | 0        |  |  |  |
| <b>Exocitosis neutrófilos</b>     |          |         |          |  |  |  |
| No                                | 34 (94)  | 6 (86)  | 17 (94)  |  |  |  |
| Escaso                            | 0        | 0       | 0        |  |  |  |
| Moderado                          | 2 (6)    | 1 (14)  | 1 (6)    |  |  |  |
| Abundante                         | 0        | 0       | 0        |  |  |  |
| <b>Exocitosis mastocitos</b>      |          |         |          |  |  |  |
| No                                | 35 (97)  | 7 (100) | 18 (100) |  |  |  |
| Escaso                            | 1 (3)    | 0       | 0        |  |  |  |
| Moderado/Abundante                | 0        | 0       | 0        |  |  |  |

TD: toxicodermias.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

#### 5.5.6. En el epitelio ecrino

En la Tabla 5.18 se muestran los rasgos histopatológicos observados en el epitelio ecrino de los pacientes con afectación cutánea por EICH aguda, EICH crónica o toxicodermias. No se observaron diferencias significativas en la comparación de EICH aguda con toxicodermias. La única diferencia significativa fue una mayor ausencia de exocitosis de linfocitos en la EICH aguda comparado con la EICH crónica ( $P = 0,02$ ).

Tabla 5.18. Rasgos histológicos en epitelio ecrino de pacientes con EICH aguda, crónica y toxicodermias.

| Hallazgo histológico              | EICHa<br>N = 56 (%) | EICHc<br>N = 15 (%) | TD<br>N = 20 (%) | EICHa<br>vs.<br>EICHc | EICHa<br>vs.<br>TD | EICHc<br>vs.<br>TD |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Incluido en la muestra</b>     |                     |                     |                  | 0,06                  | 0,1                |                    |
| Sí                                | 56 (100)            | 13 (87)             | 18 (80)          |                       |                    |                    |
| No                                | 0                   | 2 (13)              | 2 (10)           |                       |                    |                    |
| <b>Vacuolización basal</b>        |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                | 19 (34)             | 4 (31)              | 7 (37)           |                       |                    |                    |
| Focal                             | 32 (57)             | 8 (62)              | 11 (58)          |                       |                    |                    |
| Extenso                           | 3 (5)               | 0                   | 1 (5)            |                       |                    |                    |
| Hendidura subepidérmica           | 2 (4)               | 1 (8)               | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Queratinocitos apoptóticos</b> |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                | 55 (98)             | 13 (100)            | 19 (100)         |                       |                    |                    |
| Escaso                            | 1 (2)               | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| Disperso/Abundante                | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis linfocitos</b>      |                     |                     |                  | <b>0,02</b>           |                    | 0,1                |
| No                                | 38 (68)             | 6 (46)              | 16 (84)          |                       |                    |                    |
| Escaso                            | 18 (32)             | 5 (39)              | 3 (16)           |                       |                    |                    |
| Moderado                          | 0                   | 1 (8)               | 0                |                       |                    |                    |
| Abundante                         | 0                   | 1 (8)               | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis plasmáticas</b>     |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                | 56 (100)            | 13 (100)            | 19 (100)         |                       |                    |                    |
| Escaso/Moderado/Abundante         | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis eosinófilos</b>     |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                | 55 (98)             | 13 (100)            | 19 (100)         |                       |                    |                    |
| Escaso                            | 1 (2)               | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| Moderado/Abundante                | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis neutrófilos</b>     |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                | 55 (98)             | 12 (92)             | 19 (100)         |                       |                    |                    |
| Escaso                            | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| Moderado                          | 1 (2)               | 0                   | 0                |                       |                    |                    |
| Abundante                         | 0                   | 1 (8)               | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Exocitosis mastocitos</b>      |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| No                                | 56 (100)            | 13 (100)            | 18 (95)          |                       |                    |                    |
| Escaso                            | 0                   | 0                   | 1 (5)            |                       |                    |                    |
| Moderado/Abundante                | 0                   | 0                   | 0                |                       |                    |                    |

TD: toxicodermias. Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.



### 5.5.7. Infiltrado inflamatorio

En la Tabla 5.19 se muestran los rasgos de la infiltración linfocitaria en la piel de los pacientes con afectación cutánea por EICH aguda, EICH crónica o toxicodermias. Se encontraron diferencias significativas en la comparación de los porcentajes de infiltración linfocitaria en la EICH comparado con las toxicodermias. Mientras que en las toxicodermias se encontró mayor proporción de linfocitos CD4<sup>+</sup> comparado con la EICH aguda ( $P < 0,009$ ) y la crónica ( $P < 0,001$ ), en la EICH crónica se encontró mayor proporción de linfocitos CD8<sup>+</sup> que en la EICH aguda ( $P = 0,04$ ) y las toxicodermias ( $P < 0,001$ ).

Tabla 5.19. Características del infiltrado inflamatorio en la piel de EICH aguda, crónica y toxicodermias.

| Tipo linfocitos               | EICHa<br>N = 56 (%) | EICHc<br>N = 15 (%) | TD<br>N = 20 (%) | EICHa<br>vs.<br>EICHc | EICHa<br>vs.<br>TD | EICHc<br>vs.<br>TD |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Linfocitos T CD3, %</b>    |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| Mediana                       | 100                 | 100                 | 100              |                       |                    |                    |
| Extremos                      | 20-100              | 100-100             | 100-100          |                       |                    |                    |
| <b>Linfocitos T CD4, %</b>    |                     |                     |                  |                       | <b>0,009</b>       | <b>&lt;0,001</b>   |
| Mediana                       | 20                  | 25                  | 63               |                       |                    |                    |
| Extremos                      | 0-90                | 0-60                | 20-90            |                       |                    |                    |
| <b>Linfocitos T CD8, %</b>    |                     |                     |                  | <b>0,04</b>           |                    | <b>&lt;0,001</b>   |
| Mediana                       | 50                  | 75                  | 38               |                       |                    |                    |
| Extremos                      | 0-100               | 40-100              | 10-80            |                       |                    |                    |
| <b>Células Tregs FoxP3, %</b> |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| Mediana                       | 5                   | 10                  | 8                |                       |                    |                    |
| Extremos                      | 0-50                | 0-40                | 0-35             |                       |                    |                    |
| <b>Granzima B, %</b>          |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| Mediana                       | 10                  | 15                  | 2                |                       |                    |                    |
| Extremos                      | 0-90                | 0-40                | 0-30             |                       |                    |                    |
| <b>TIA-1, %</b>               |                     |                     |                  |                       | <b>0,08</b>        |                    |
| Mediana                       | 20                  | 35                  | 10               |                       |                    |                    |
| Extremos                      | 0-100               | 30-65               | 1-50             |                       |                    |                    |

TD: toxicodermias; Tregs: células T reguladoras, TIA-1: T-cell intracellular antigen 1, ICAM-1: Intercellular adhesion molecule 1.

### 5.5.8. Grado histológico en la EICH cutánea aguda y crónica según su gravedad

El grado histológico asignado a 62 y 52 biopsias realizadas en pacientes con EICH aguda y crónica, respectivamente, se muestra en la Tabla 5.20. La gran mayoría fueron grados 1 y 2 en los pacientes con EICH aguda (40% y 48%, respectivamente) y con EICH crónica (35% y 50%, respectivamente). El grado máximo observado en nuestra serie fue un grado 3 en 11% y 15% de los pacientes con EICH aguda y crónica, respectivamente. No observamos ningún caso con un grado 4. No se encontraron diferencias significativas en la distribución de los grados histológicos entre la EICH aguda y la crónica.

Tabla 5.20. Grados histológicos en la EICH cutánea aguda y crónica.

| Grado histológico | EICHa<br>N = 62 (%) | EICHc<br>N = 52 (%) |
|-------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Grado 1</b>    | 25 (40)             | 18 (35)             |
| <b>Grado 2</b>    | 30 (48)             | 26 (50)             |
| <b>Grado 3</b>    | 7 (11)              | 8 (15)              |
| <b>Grado 4</b>    | 0                   | 0                   |

Grado 1: Degeneración vacuolar basal; Grado 2: Grado 1 + necrosis epidérmica / cuerpos eosinófilos; Grado 3: Grado 2 + separación dermoepidérmica; Grado 4: Despegamiento extenso. Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

La distribución de los grados histológicos se mantuvo muy similar cuando se analizan por separado los grados de EICH aguda según la clasificación de Glucksberg (Tabla 5.21).

Tabla 5.21. Grados histológicos según la gravedad de la EICH aguda (Glucksberg).

| Grado histológico | Grado I<br>N = 19 (%) | Grado II<br>N = 35 (%) | Grado III<br>N = 4 (%) | Grado IV<br>N = 4 (%) | P |
|-------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|---|
| <b>Grado 1</b>    | 6 (32)                | 15 (43)                | 2 (50)                 | 2 (50)                | 1 |
| <b>Grado 2</b>    | 10 (53)               | 16 (46)                | 2 (50)                 | 2 (50)                |   |
| <b>Grado 3</b>    | 3 (16)                | 4 (11)                 | 0                      | 0                     |   |

Grado 1: Degeneración vacuolar basal; Grado 2: Grado 1 + necrosis epidérmica / cuerpos eosinófilos; Grado 3: Grado 2 + separación dermoepidérmica; Grado 4: Despegamiento extenso. Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

La distribución de los grados histológicos cuando se analizan por separado los grados clínicos de EICH cutánea aguda se muestran en la Tabla 5.22. En los casos de EICH cutánea aguda leve (grados 1 y 2) se encontró un porcentaje importante de biopsias con grado histológicos 3 (48% y 35% respectivamente). En la gravedad cutánea 3, el 52% de las biopsias tenía un grado 1 histológico. En cambio, en los casos cutáneos graves (grado 4) todas las biopsias tenían al menos un grado 2 histológico. Ninguna de las biopsias de los casos graves (grado 4) presentó despegamiento epidérmico extenso por lo que no hubo ninguna biopsia clasificada como grado 4 histológico. Las diferencias observadas no fueron significativas.

Tabla 5.22. Grados histológicos según la gravedad cutánea máxima de la EICH cutánea aguda.

| Grado histológico | Grado 1<br>N = 25 (%) | Grado 2<br>N = 20 (%) | Grado 3<br>N = 23 (%) | Grado 4<br>N = 11 (%) | P   |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----|
| <b>Grado 1</b>    | 4 (16)                | 9 (45)                | 12 (52)               | 0                     | 0,1 |
| <b>Grado 2</b>    | 9 (36)                | 4 (20)                | 4 (17)                | 4 (36)                |     |
| <b>Grado 3</b>    | 12 (48)               | 7 (35)                | 7 (30)                | 7 (64)                |     |

Grado 1: Degeneración vacuolar basal; Grado 2: Grado 1 + necrosis epidérmica / cuerpos eosinófilos; Grado 3: Grado 2 + separación dermoepidérmica; Grado 4: Despegamiento extenso. Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

La distribución de los grados histológicos cuando se analizan por separado los grados clínicos de EICH crónica se muestran en la Tabla 5.23. Las diferencias observadas no fueron significativas.

Tabla 5.23. Grados histológicos según la gravedad de la EICH crónica.

| Grado histológico | Leve<br>N = 22 (%) | Moderada<br>N = 23 (%) | Grave<br>N = 7 (%) | P   |
|-------------------|--------------------|------------------------|--------------------|-----|
| <b>Grado 1</b>    | 8 (36)             | 7 (30)                 | 3 (43)             | 0,6 |
| <b>Grado 2</b>    | 12 (55)            | 12 (52)                | 2 (29)             |     |
| <b>Grado 3</b>    | 2 (9)              | 4 (17)                 | 2 (29)             |     |

Grado 1: Degeneración vacuolar basal; Grado 2: Grado 1 + necrosis epidérmica / cuerpos eosinófilos; Grado 3: Grado 2 + separación dermoepidérmica; Grado 4: Despegamiento extenso. Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

En la Tabla 5.24 se muestra la distribución de los grados histológicos según los grados clínicos de EICH cutánea crónica. En la afectación cutánea leve (grado 1), la mayoría de biopsias tuvieron un grado histológico 2 (56%). En la afectación cutánea moderada (grado 2) las biopsias se distribuyeron en partes iguales en los 3 grados histológicos. Por último, en la afectación cutánea grave (grado 3) los grados histológicos 1, 2 y 3 fueron del 40%, 20% y 40% respectivamente. Las diferencias observadas no alcanzaron significación estadística.

Tabla 5.24. Grados histológicos según la gravedad cutánea máxima de la EICH crónica.

| Grado histológico | Grado 1<br>N = 18 (%) | Grado 2<br>N = 6 (%) | Grado 3<br>N = 5 (%) | P    |
|-------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|------|
| <b>Grado 1</b>    | 4 (22)                | 2 (33)               | 2 (40)               | 0,09 |
| <b>Grado 2</b>    | 10 (56)               | 2 (33)               | 1 (20)               |      |
| <b>Grado 3</b>    | 4 (22)                | 2 (33)               | 2 (40)               |      |

Grado 1: Degeneración vacuolar basal; Grado 2: Grado 1 + necrosis epidérmica / cuerpos eosinófilos; Grado 3: Grado 2 + separación dermoepidérmica; Grado 4: Despegamiento extenso. Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

### 5.5.9. Patrón histológico en la EICH aguda y crónica.

Excepto 4 pacientes con un patrón histológico inespecífico, el resto mostró un patrón de interfase vacuolar, tanto en la EICH cutánea aguda como en la crónica (95% y 92%, respectivamente).

**5.5.10. Patrón de expresión de la elafina cutánea en la EICH aguda y crónica comparado con las toxicodermias.**

En la Tabla 5.25 se muestran las características de expresión de la elafina tisular en las biopsias cutáneas en la EICH aguda y crónica, así como en las toxicodermias. En la EICH aguda encontramos que el patrón más frecuente en la epidermis fue extensión total (93%), homogéneo (93%) e intensidad baja (59%). En la EICH crónica la expresión de elafina fue más variable, siendo la extensión total en la epidermis en la mitad de los casos, 60% de forma parcheada y con intensidad alta en el 21%. En las toxicodermias, el 88% mostró una extensión total en la epidermis, con patrón homogéneo en todos los casos, y una intensidad débil en el 55%.

Se encontraron diferencias significativas en la extensión, intensidad y patrón de la expresión de elafina en la epidermis de la EICH aguda comparado con la EICH crónica. No se observó ninguna diferencia entre la EICH aguda y las toxicodermias, pero en todos los casos de toxicodermias se observó un patrón homogéneo, aunque su intensidad fue alta solo en un tercio de los casos. Este patrón homogéneo solo se vio en el 40% de las biopsias de pacientes con EICH crónica siendo esta diferencia significativa ( $P < 0.001$ ).

La expresión de elafina en la capa granulosa, fue aún más variable que en la epidermis, tanto en el patrón como en la intensidad, y no se encontró ninguna diferencia significativa entre los tres grupos.

Tabla 5.25. Patrones de expresión de la elafina en las biopsias.

| Expresión elafina | Total<br>N = 91 | EICHa<br>N = 56 (%) | EICHc<br>N = 15 (%) | TD<br>N = 20 (%) | EICHa<br>vs.<br>EICHc | EICHa<br>vs.<br>TD | EICHc<br>vs.<br>TD |
|-------------------|-----------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Epidermis</b>  |                 |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| <b>Extensión</b>  | 70              |                     |                     |                  | <b>0,004</b>          | 0,6                | 0,07               |
| Parcial           | 10 (14)         | 3 (7)               | 5 (50)              | 2 (12)           |                       |                    |                    |
| Total             | 60 (86)         | 40 (93)             | 5 (50)              | 15 (88)          |                       |                    |                    |
| <b>Intensidad</b> | 90              |                     |                     |                  | <b>0,028</b>          | 0,6                | 0,06               |
| -                 | 20 (22)         | 13 (23)             | 4 (29)              | 3 (15)           |                       |                    |                    |
| +                 | 47 (52)         | 33 (59)             | 3 (21)              | 11 (55)          |                       |                    |                    |
| ++                | 19 (21)         | 9 (16)              | 4 (29)              | 6 (30)           |                       |                    |                    |
| +++               | 4 (4)           | 1 (2)               | 3 (21)              | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Patrón</b>     | 70              |                     |                     |                  | <b>&lt;0,001</b>      | 0,8                | <b>&lt;0,001</b>   |
| Homogéneo         | 61 (87)         | 40 (93)             | 4 (40)              | 17 (100)         |                       |                    |                    |
| Parcheado         | 9 (13)          | 3 (7)               | 6 (60)              | 0                |                       |                    |                    |
| <b>Granulosa</b>  |                 |                     |                     |                  |                       |                    |                    |
| <b>Intensidad</b> |                 |                     |                     |                  | 0,2                   | 0,08               | 0,1                |
| -                 | 6 (7)           | 4 (7)               | 2 (14)              | 0                |                       |                    |                    |
| +                 | 11 (12)         | 10 (18)             | 1 (7)               | 0                |                       |                    |                    |
| ++                | 35 (39)         | 23 (41)             | 3 (21)              | 9 (45)           |                       |                    |                    |
| +++               | 38 (42)         | 19 (34)             | 8 (57)              | 11 (55)          |                       |                    |                    |
| <b>Patrón</b>     | 83              |                     |                     |                  | 0,7                   | 0,6                | >0,9               |
| Homogéneo         | 46 (55)         | 27 (53)             | 7 (58)              | 12 (60)          |                       |                    |                    |
| Parcheado         | 37 (45)         | 24 (47)             | 5 (42)              | 8 (40)           |                       |                    |                    |

TD: toxicodermias.

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

La expresión de elafina en las biopsias fue categorizada en alta y baja según que la intensidad de la expresión en la epidermis fuese intensa (>++) y homogénea o no. No se observaron diferencias significativas en la distribución de estas categorías entre las tres cohortes comparadas dos a dos (Tabla 5.26).

Tabla 5.26. Patrones de expresión de la elafina en las biopsias agrupados según su intensidad.

| Expresión elafina                    | Total    | Alta   | Baja    | P    |
|--------------------------------------|----------|--------|---------|------|
| <b>EICH aguda, n (%)</b>             | 56 (100) | 9 (16) | 47 (84) |      |
| <b>EICH crónica, n (%)</b>           | 14 (100) | 2 (14) | 12 (86) |      |
| <b>Toxicodermia, n (%)</b>           | 20 (100) | 6 (30) | 14 (70) |      |
| <b>EICH aguda vs. EICH crónica</b>   |          |        |         | >0,9 |
| <b>EICH aguda vs. Toxicodermia</b>   |          |        |         | 0,2  |
| <b>EICH crónica vs. Toxicodermia</b> |          |        |         | 0,4  |

#### 5.5.11. Asociación de la intensidad de la expresión de la elafina con el resto de variables histológicas.

En la Tabla 5.27 se muestra la asociación de la intensidad de la expresión de elafina respecto a los hallazgos histológicos en la EICH en su conjunto, tanto aguda como crónica. Fue estadísticamente significativa la asociación de hiperqueratosis, la presencia de queratinocitos atípicos en la epidermis y la presencia de uno o más cuerpos apoptóticos por campo de 10x con una baja intensidad de la expresión de elafina ( $P = 0.006$ ,  $P = 0.046$  y  $P = 0.024$ , respectivamente). No se encontró ninguna asociación entre el resto de las variables estudiadas y la expresión de elafina.

Tabla 5.27. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con rasgos histológicos de la EICH en su conjunto (aguda y crónica).

| Expresión elafina              | Total<br>N = 71 | Alta<br>N = 11 (%) | Baja<br>N = 59 (%) | P            |
|--------------------------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------|
| <b>Grosor epidermis, n (%)</b> | 69              |                    |                    | 0,6          |
| Normal                         | 25 (36)         | 5 (50)             | 20 (34)            |              |
| Atrófico                       | 34 (49)         | 4 (40)             | 30 (51)            |              |
| Acantosis                      | 10 (15)         | 1 (10)             | 9 (15)             |              |
| <b>Hiperqueratosis, n (%)</b>  | 70              |                    |                    | <b>0,006</b> |
| Si                             | 55 (79)         | 5 (45)             | 51 (86)            |              |
| No                             | 15 (21)         | 6 (55)             | 8 (14)             |              |
| <b>Paraqueratosis, n (%)</b>   | 69              |                    |                    | 0,7          |
| normal                         | 57 (83)         | 9 (90)             | 48 (81)            |              |
| focal                          | 12 (17)         | 1 (10)             | 11 (19)            |              |
| extensa                        | 0               | 0                  | 0                  |              |

|                                                     |         |         |         |              |
|-----------------------------------------------------|---------|---------|---------|--------------|
| <b>Queratinocitos atípicos, n (%)</b>               | 70      |         |         | <b>0,046</b> |
| Si                                                  | 44 (62) | 4 (36)  | 41 (69) |              |
| No                                                  | 26 (37) | 7 (64)  | 18 (31) |              |
| <b>Cuerpos apoptóticos, n (%)</b>                   | 68      |         |         | <b>0,024</b> |
| Ninguno                                             | 24 (35) | 4 (40)  | 20 (35) |              |
| 1/10x                                               | 22 (32) | 6 (60)  | 16 (28) |              |
| >1/10x                                              | 22 (32) | 0 (0)   | 22 (38) |              |
| <b>Vacuolización capa basal, n (%)</b>              | 61      |         |         | <b>0,2</b>   |
| No                                                  | 5 (8)   | 2 (22)  | 3 (6)   |              |
| focal                                               | 39 (64) | 5 (56)  | 34 (65) |              |
| extenso                                             | 17 (28) | 2 (22)  | 15 (29) |              |
| Hendidura subepidérmica                             | 0       | 0       | 0       |              |
| <b>Inflamación dermis papilar, n (%)</b>            | 66      |         |         | <b>0,8</b>   |
| No                                                  | 2 (3)   | 0       | 2 (4)   |              |
| localizada                                          | 49 (74) | 8 (89)  | 41 (72) |              |
| generalizada                                        | 15 (23) | 1 (11)  | 14 (25) |              |
| <b>Inflamación dermis reticular, n (%)</b>          | 62      |         |         | <b>0,1</b>   |
| No                                                  | 25 (40) | 4 (44)  | 21 (40) |              |
| localizada                                          | 36 (58) | 4 (44)  | 32 (60) |              |
| generalizada                                        | 1 (2)   | 1 (11)  | 0       |              |
| <b>Inflamación tejido celular subcutáneo, n (%)</b> | 43      |         |         | <b>0,1</b>   |
| No                                                  | 26 (61) | 5 (100) | 21 (55) |              |
| localizada                                          | 17 (40) | 0       | 17 (45) |              |
| generalizada                                        | 0       | 0       | 0       |              |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

En la Tabla 5.28 se muestra la asociación de la intensidad de la expresión de elafina respecto a los hallazgos histológicos en la EICH aguda. Ninguna de las variables se asoció significativamente con la intensidad de la expresión de elafina, salvo la presencia de queratinocitos apoptóticos, que se asoció con una baja intensidad de la expresión de elafina ( $P = 0.049$ ).



Tabla 5.28. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con rasgos histológicos de la EICH aguda.

| Expresión elafina                                   | Total<br>N = 56 | Alta<br>N = 9 (%) | Baja<br>N = 47 (%) | P     |
|-----------------------------------------------------|-----------------|-------------------|--------------------|-------|
| <b>Grosor epidermis, n (%)</b>                      | 56              |                   |                    | 0,6   |
| Normal                                              | 20 (36)         | 4 (44)            | 16 (34)            |       |
| Atrófico                                            | 32 (57)         | 4 (44)            | 28 (60)            |       |
| Acantosis                                           | 4 (7)           | 1 (11)            | 3 (6)              |       |
| <b>Hiperqueratosis, n (%)</b>                       | 56              |                   |                    | 0,06  |
| Si                                                  | 45 (80)         | 5 (56)            | 40 (85)            |       |
| No                                                  | 11 (20)         | 4 (44)            | 7 (15)             |       |
| <b>Paraqueratosis, n (%)</b>                        | 56              |                   |                    | >0,9  |
| normal                                              | 48 (86)         | 8 (89)            | 40 (85)            |       |
| focal                                               | 8 (14)          | 1 (11)            | 7 (15)             |       |
| extensa                                             | 0               | 0                 | 0                  |       |
| <b>Queratinocitos atípicos, n (%)</b>               | 56              |                   |                    | 0,049 |
| Si                                                  | 37 (66)         | 3 (33)            | 34 (72)            |       |
| No                                                  | 19 (34)         | 6 (67)            | 13 (28)            |       |
| <b>Cuerpos apoptóticos, n (%)</b>                   | 55              |                   |                    | 0,086 |
| Ninguno                                             | 22 (40)         | 4 (44)            | 18 (39)            |       |
| 1/10x                                               | 18 (33)         | 5 (56)            | 13 (28)            |       |
| >1/10x                                              | 15 (27)         | 0 (0)             | 15 (33)            |       |
| <b>Vacuolización capa basal, n (%)</b>              | 53              |                   |                    | 0,2   |
| No                                                  | 4 (8)           | 2 (22)            | 2 (5)              |       |
| focal                                               | 36 (68)         | 5 (56)            | 31 (70)            |       |
| extenso                                             | 13 (25)         | 2 (22)            | 11 (25)            |       |
| Hendidura subepidérmica                             | 0               | 0                 | 0                  |       |
| <b>Inflamación dermis papilar, n (%)</b>            | 53              |                   |                    | 0,4   |
| No                                                  | 2 (4)           | 0                 | 2 (4)              |       |
| localizada                                          | 44 (83)         | 8 (100)           | 36 (80)            |       |
| generalizada                                        | 7 (13)          | 0 (0)             | 7 (16)             |       |
| <b>Inflamación dermis reticular, n (%)</b>          | 49              |                   |                    | 0,7   |
| No                                                  | 21 (43)         | 4 (50)            | 17 (41)            |       |
| localizada                                          | 28 (57)         | 4 (50)            | 24 (59)            |       |
| generalizada                                        | 0 (0)           | 0 (0)             | 0                  |       |
| <b>Inflamación tejido celular subcutáneo, n (%)</b> | 34              |                   |                    | 0,13  |
| No                                                  | 21 (62)         | 5 (100)           | 16 (55)            |       |
| localizada                                          | 13 (38)         | 0                 | 13 (45)            |       |
| generalizada                                        | 0               | 0                 | 0                  |       |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

En la Tabla 5.29 se muestra la asociación de la intensidad de la expresión de elafina respecto a los hallazgos histológicos en la EICH crónica. Ninguna de las variables se asoció significativamente con la intensidad de expresión de la elafina. Sólo fue significativa la asociación de hiperqueratosis con una baja intensidad de la expresión de elafina, ya que todas las biopsias que mostraron hiperqueratosis tenían una expresión baja de elafina ( $P = 0.033$ ).

Tabla 5.29. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con rasgos histológicos de la EICH crónica.

| Expresión elafina                        | Total<br>N = 15 | Alta<br>N = 2 (%) | Baja<br>N = 12 (%) | P            |
|------------------------------------------|-----------------|-------------------|--------------------|--------------|
| <b>Grosor epidermis, n (%)</b>           | 13              |                   |                    | 0,5          |
| Normal                                   | 5 (39)          | 1 (100)           | 4 (33)             |              |
| Atrófico                                 | 2 (16)          | 0 (0)             | 2 (17)             |              |
| Acantosis                                | 6 (46)          | 0 (0)             | 6 (50)             |              |
| <b>Hiperqueratosis, n (%)</b>            | 14              |                   |                    | <b>0,033</b> |
| Si                                       | 11 (73)         | 0 (0)             | 11 (92)            |              |
| No                                       | 4 (27)          | 2 (100)           | 1 (8)              |              |
| <b>Paraqueratosis, n (%)</b>             | 13              |                   |                    | >0,9         |
| normal                                   | 9 (69)          | 1 (100)           | 8 (67)             |              |
| focal                                    | 4 (31)          | 0 (0)             | 4 (33)             |              |
| extensa                                  | 0 (0)           | 0 (0)             | 0 (0)              |              |
| <b>Queratinocitos atípicos, n (%)</b>    | 14              |                   |                    | >0,9         |
| Si                                       | 8               | 1 (50)            | 7 (58)             |              |
| No                                       | 7 (47)          | 1 (50)            | 5 (42)             |              |
| <b>Cuerpos apoptóticos, n (%)</b>        | 13              |                   |                    | 0,5          |
| Ninguno                                  | 2 (15)          | 0 (0)             | 2 (17)             |              |
| 1/10x                                    | 4 (31)          | 1 (100)           | 3 (25)             |              |
| >1/10x                                   | 7 (54)          | 0 (0)             | 7 (58)             |              |
| <b>Vacuolización capa basal, n (%)</b>   | 8               |                   |                    | >0,9         |
| No                                       | 1 (13)          | 0                 | 1 (13)             |              |
| focal                                    | 3 (38)          | 0                 | 3 (38)             |              |
| extenso                                  | 4 (50)          | 0                 | 4 (50)             |              |
| Hendidura subepidérmica                  | 0 (0)           | 0                 | 0 (0)              |              |
| <b>Inflamación dermis papilar, n (%)</b> | 13              |                   |                    | >0,9         |
| No                                       | 0 (0)           | 0 (0)             | 0 (0.0)            |              |

|                                                     |        |         |        |      |
|-----------------------------------------------------|--------|---------|--------|------|
| localizada                                          | 5 (39) | 0 (0)   | 5 (42) |      |
| generalizada                                        | 8 (62) | 1 (100) | 7 (58) |      |
| <b>Inflamación dermis reticular, n (%)</b>          | 13     |         |        | 0,08 |
| No                                                  | 4 (31) | 0 (0)   | 4 (33) |      |
| localizada                                          | 8 (62) | 0 (0)   | 8 (67) |      |
| generalizada                                        | 1 (8)  | 1 (100) | 0 (0)  |      |
| <b>Inflamación tejido celular subcutáneo, n (%)</b> | 9      |         |        | >0,9 |
| No                                                  | 5 (56) | 0 (0)   | 5 (56) |      |
| localizada                                          | 4 (44) | 0 (0)   | 4 (44) |      |
| generalizada                                        | 0 (0)  | 0 (0)   | 0 (0)  |      |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

En la Tabla 5.30 se muestra la asociación de la intensidad de la expresión de elafina con una serie de rasgos histológicos de las toxicodermias, como el grosor epidérmico, hiperqueratosis, paraqueratosis, queratinocitos atípicos, cuerpos apoptóticos, vacuolización de la capa basal, inflamación de la dermis papilar, reticular y del tejido celular subcutáneo. No se encontró ninguna asociación de las variables histológicas con la intensidad de la expresión de la elafina.

Tabla 5.30. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con rasgos histológicos de las toxicodermias.

| Expresión elafina                     | Total<br>N = 20 | Alta<br>N = 6 (%) | Baja<br>N = 14 (%) | P   |
|---------------------------------------|-----------------|-------------------|--------------------|-----|
| <b>Grosor epidermis, n (%)</b>        | 20              |                   |                    | 0,4 |
| Normal                                | 8 (40)          | 4 (67)            | 4 (29)             |     |
| Atrófico                              | 6 (30)          | 1 (17)            | 5 (36)             |     |
| Acantosis                             | 6 (30)          | 1 (17)            | 5 (36)             |     |
| <b>Hiperqueratosis, n (%)</b>         | 20              |                   |                    | 0,6 |
| Si                                    | 15 (75)         | 4 (67)            | 22 (79)            |     |
| No                                    | 5 (25)          | 2 (33)            | 3 (21)             |     |
| <b>Paraqueratosis, n (%)</b>          | 20              |                   |                    | 0,5 |
| normal                                | 18 (90)         | 5 (83)            | 13 (93)            |     |
| focal                                 | 1 (5)           | 0                 | 1 (7)              |     |
| extensa                               | 1 (5)           | 1 (17)            | 0 (0)              |     |
| <b>Queratinocitos atípicos, n (%)</b> | 20              |                   |                    |     |

|                                                     |         |         |         |      |
|-----------------------------------------------------|---------|---------|---------|------|
| Si                                                  | 7 (35)  | 2 (33)  | 5 (36)  | >0,9 |
| No                                                  | 13 (65) | 4 (67%) | 9 (64)  |      |
| <b>Cuerpos apoptóticos, n (%)</b>                   | 20      |         |         | 0,4  |
| Ninguno                                             | 13 (65) | 4 (67%) | 9 (64%) |      |
| 1/10x                                               | 6 (30)  | 1 (17%) | 5 (36%) |      |
| >1/10x                                              | 1 (5)   | 1 (17%) | 0       |      |
| <b>Vacuolización capa basal, n (%)</b>              |         |         |         | 0,8  |
| No                                                  | 3 (19)  | 1 (25)  | 2 (17)  |      |
| focal                                               | 10 (63) | 3 (75)  | 7 (58)  |      |
| extenso                                             | 3 (19)  | 0       | 3 (25)  |      |
| Hendidura subepidérmica                             | 0       | 0       | 0       |      |
| <b>Inflamación dermis papilar, n (%)</b>            | 20      |         |         | 0,4  |
| No                                                  | 1 (5)   | 1 (17)  | 0       |      |
| localizada                                          | 12 (60) | 3 (50)  | 9 (64)  |      |
| generalizada                                        | 7 (35)  | 2 (33)  | 5 (36)  |      |
| <b>Inflamación dermis reticular, n (%)</b>          | 20      |         |         | >0,9 |
| No                                                  | 3 (15)  | 1 (17)  | 2 (14)  |      |
| localizada                                          | 16 (80) | 5 (83)  | 11 (79) |      |
| generalizada                                        | 1 (5)   | 0 (0)   | 1 (7)   |      |
| <b>Inflamación tejido celular subcutáneo, n (%)</b> | 15      |         |         | 0,6  |
| No                                                  | 7 (47)  | 2 (67)  | 5 (42)  |      |
| localizada                                          | 8 (53)  | 1 (33)  | 7 (58)  |      |
| generalizada                                        | 0       | 0       | 0       |      |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

#### **5.5.12. Relación de la expresión de elafina con la intensidad y características del infiltrado inflamatorio.**

En las Tabla 5.31, Tabla 5.32 y Tabla 5.33 se muestran la asociación de la intensidad de la expresión de elafina con las poblaciones linfocitarias del infiltrado inflamatorio en la piel de los pacientes con afectación cutánea por EICH aguda, EICH crónica o toxicodermias. No se encontró asociación alguna entre la intensidad de la expresión de elafina y las subpoblaciones linfocitarias analizadas en la EICH aguda, EICH crónica y las toxicodermias.

Tabla 5.31. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con el infiltrado inflamatorio en la EICH aguda cutánea.

| Tipo linfocitos     | Alta<br>(n = 9)<br>media (DE) | Baja<br>(n = 47)<br>media (DE) | P   |
|---------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----|
| Linfocitos T CD3    | 95 (10)                       | 98 (12)                        | 0,5 |
| Linfocitos T CD4    | 46 (33)                       | 33 (33)                        | 0,3 |
| Linfocitos T CD8    | 48 (29)                       | 55 (34)                        | 0,6 |
| Células Tregs FoxP3 | 4 (4)                         | 8 (11)                         | 0,3 |
| Granzima B          | 33 (22)                       | 18 (25)                        | 0,2 |
| TIA-1               | 46 (30)                       | 34 (33)                        | 0,4 |

TIA-1: T-cell intracelular antigen 1

Tabla 5.32. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con el infiltrado inflamatorio en la EICH crónica cutánea.

| Tipo linfocitos     | Alta<br>(n = 2)<br>media (DE) | Baja<br>(n = 12)<br>media (DE) | P   |
|---------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----|
| Linfocitos T CD3    | 100 (0)                       | 100 (0)                        | ND  |
| Linfocitos T CD4    | 45 (21)                       | 22 (19)                        | 0,1 |
| Linfocitos T CD8    | 55 (21)                       | 78 (19)                        | 0,1 |
| Células Tregs FoxP3 | 0                             | 19 (17)                        | 0,1 |
| Granzima B          | ND                            | 20 (17)                        | ND  |
| TIA-1               | ND                            | 41 (15)                        | ND  |

TIA-1: T-cell intracelular antigen 1

Tabla 5.33. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con el infiltrado inflamatorio en las toxicodermias.

| Tipo linfocitos     | Alta<br>(n = 6)<br>media (DE) | Baja<br>(n = 14)<br>media (DE) | P   |
|---------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----|
| Linfocitos T CD3    | 100 (0)                       | 100 (0)                        | ND  |
| Linfocitos T CD4    | 53 (26)                       | 58 (20)                        | 0,6 |
| Linfocitos T CD8    | 48 (26)                       | 42 (20)                        | 0,6 |
| Células Tregs FoxP3 | 7 (7)                         | 12 (12)                        | 0,4 |
| Granzima B          | 10 (17)                       | 6 (7)                          | 0,5 |
| TIA-1               | 32 (24)                       | 15 (15)                        | 0,2 |

### 5.5.13. Relación de la expresión de elafina con la gravedad y pronóstico de la EICH aguda y crónica.

En las Tabla 5.34, Tabla 5.35 se muestra la asociación de la intensidad de la expresión de elafina y el grado de EICH aguda y crónica, respectivamente. No se encontró asociación significativa alguna.

Tabla 5.34. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina y grado de EICH aguda.

| Grados de EICH aguda     | Total   | Alta<br>N = 9 (%) | Baja<br>N = 47 (%) | P   |
|--------------------------|---------|-------------------|--------------------|-----|
| <b>Cutáneo, n (%)</b>    |         |                   |                    | 0,5 |
| Grado 1                  | 18 (32) | 4 (44)            | 14 (30)            |     |
| Grado 2                  | 20 (36) | 4 (44)            | 16 (34)            |     |
| Grado 3                  | 17 (30) | 1 (11)            | 16 (34)            |     |
| Grado 4                  | 1 (2)   | 0                 | 1 (2)              |     |
| <b>Global, n (%)</b>     |         |                   |                    | 0,9 |
| Grado 1                  | 12 (21) | 2 (22)            | 10 (21)            |     |
| Grado 2                  | 36 (64) | 6 (67)            | 30 (64)            |     |
| Grado 3                  | 6 (11)  | 1 (11)            | 5 (11)             |     |
| Grado 4                  | 2 (4)   | 0                 | 2 (4)              |     |
| <b>Glucksberg, n (%)</b> |         |                   |                    | 0,8 |
| Grado 1                  | 19 (34) | 3 (33)            | 16 (34)            |     |
| Grado 2                  | 30 (54) | 5 (56)            | 25 (53)            |     |
| Grado 3                  | 4 (7)   | 1 (11)            | 3 (6)              |     |
| Grado 4                  | 3 (5)   | 0                 | 3 (6)              |     |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

Tabla 5.35. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina y grado de EICH crónica.

| Grados de EICH crónica | Total  | Alta<br>N = 2 (%) | Baja<br>N = 12 (%) | P   |
|------------------------|--------|-------------------|--------------------|-----|
| <b>Cutáneo, n (%)</b>  |        |                   |                    | 0,4 |
| Grado 1                | 9 (69) | 1 (50)            | 7 (70)             |     |
| Grado 2                | 2 (15) | 1 (50)            | 1 (10)             |     |
| Grado 3                | 2 (15) | 0                 | 2 (20)             |     |
| <b>Global, n (%)</b>   |        |                   |                    | 0,7 |
| Leve                   | 5 (33) | 1 (50)            | 4 (33)             |     |
| Moderado               | 6 (40) | 1 (50)            | 5 (42)             |     |
| Grave                  | 4 (27) | 0                 | 3 (25)             |     |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

Tabla 5.36. Asociación de la intensidad de la expresión de elafina con la MSR.y SG

| Eventos           | Total | Alta<br>N = 11 (%) | Baja<br>N = 59 (%) | P   |
|-------------------|-------|--------------------|--------------------|-----|
| <b>MSR, n (%)</b> |       |                    |                    | 0,9 |
| Sí                | 17    | 2 (18)             | 15 (26)            |     |
| No                | 53    | 9 (82)             | 44 (74)            |     |
| <b>SG, n (%)</b>  |       |                    |                    | 0,9 |
| Sí                | 33    | 5 (46)             | 28 (48)            |     |
| No                | 36    | 6 (54)             | 30 (52)            |     |

Los porcentajes pueden no sumar 100 debido al redondeo.

## 5.6. Elafina plasmática

### 5.6.1. Elafina plasmática pre- y pos-TPH en la serie global y según el tipo de TPH

En la Tabla 5.37 se muestran los niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH en días predeterminados (+7, +14, +21, +28, +100, +180 y +365) y en el momento de la aparición del exantema, tanto en la serie global como en los diferentes tipos de TPH. No se observaron diferencias significativas en los niveles de elafina plasmática entre los diferentes tipos de trasplante en ninguno de los momentos pre- y pos-trasplante en que se evaluó.

Tabla 5.37. Niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH en la serie global y según tipos de TPH.

| Momento del estudio    | Total      | DHI        | DNE        | Haplo       | SCU        | P    |
|------------------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------|
| <b>Pre-TPH, n</b>      | 109        |            |            |             |            | 0,8  |
| Mediana                | 6961       | 7401       | 7125       | 6510        | 5840       |      |
| Extremos               | 2499-24255 | 2499-21646 | 3122-16166 | 3042- 20560 | 3021-24255 |      |
| <b>Día +7, n</b>       | 110        |            |            |             |            | 0,4  |
| Mediana                | 11338      | 11316      | 10726      | 11876       | 9165       |      |
| Extremos               | 2551-80921 | 2551-80921 | 6725-25601 | 3618-23206  | 3222-50013 |      |
| <b>Día +14, n</b>      | 112        |            |            |             |            |      |
| Mediana                | 8234       | 9146       | 8980       | 7182        | 6636       | 0,2  |
| Extremos               | 1113-31851 | 1592-23206 | 1113-31851 | 2844-25139  | 1514-25414 |      |
| <b>Día +21, n</b>      | 103        |            |            |             |            | 0,06 |
| Mediana                | 7021       | 7373       | 7464       | 5855        | 6425       |      |
| Extremos               | 1187-26313 | 1187-22055 | 3334-16579 | 2660-13862  | 2522-26313 |      |
| <b>Día +28, n</b>      | 99         |            |            |             |            | 0,4  |
| Mediana                | 7159       | 7684       | 8416       | 6342        | 6889       |      |
| Extremos               | 1281-50805 | 1281-50805 | 3548-19418 | 1576-16487  | 1569-26589 |      |
| <b>Día +100, n</b>     | 91         |            |            |             |            | 0,8  |
| Mediana                | 8851       | 9448       | 8516       | 9504        | 6286       |      |
| Extremos               | 1386-46929 | 1434-32306 | 1984-46929 | 1386-17963  | 1707-20142 |      |
| <b>Día +180, n</b>     | 67         |            |            |             |            | 0,8  |
| Mediana                | 9365       | 8877       | 8970       | 12034       | 11902      |      |
| Extremos               | 2844-32000 | 3009-32000 | 4877-20039 | 2844-18565  | 5120-17451 |      |
| <b>Día +365, n</b>     | 49         |            |            |             |            | 0,4  |
| Mediana                | 8264       | 6842       | 10812      | 8619        | 9715       |      |
| Extremos               | 2796-36363 | 2795-20773 | 4022-15044 | 3315-36363  | 5064-24043 |      |
| <b>Día exantema, n</b> | 56         |            |            |             |            | 0,4  |
| Mediana                | 9186       | 10407      | 8914       | 7725        | 7820       |      |
| Extremos               | 1922-42960 | 4335-30101 | 4824-42960 | 1922-19819  | 5719-22867 |      |

Niveles de elafina expresados en pg/mL.

DHI: donante hermano HLA idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: donante haploidéntico; SCU: trasplante de sangre de cordón umbilical.



La comparación de los niveles de elafina plasmática en diferentes periodos pos-TPH y en el momento del exantema asociado a la EICH con los niveles pre-TPH se muestran en la Figura 5.41.

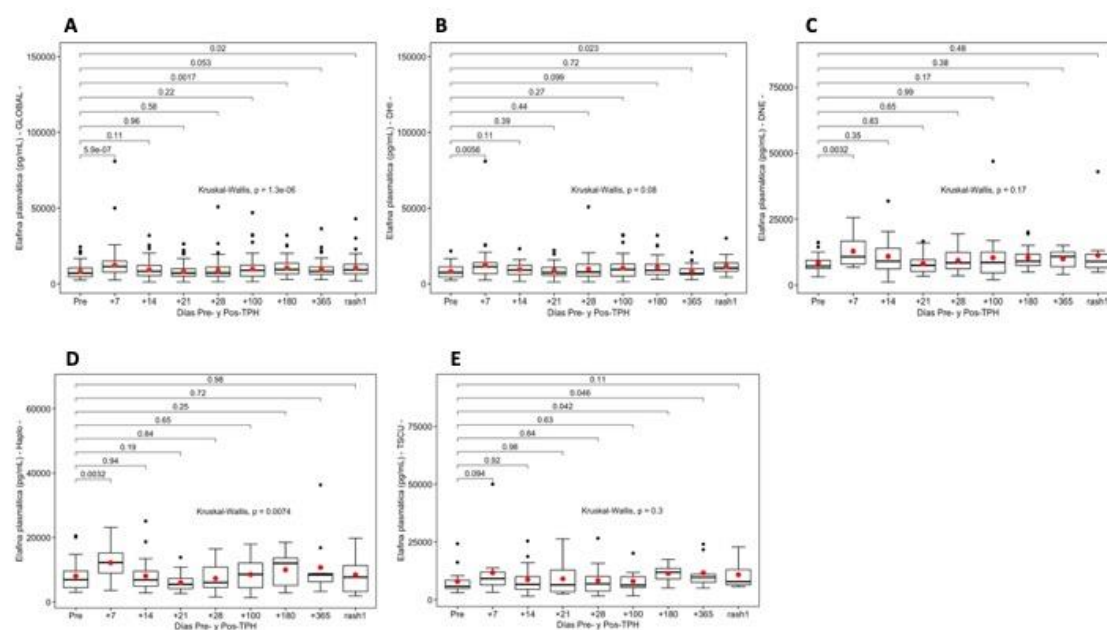


Figura 5.41. Cambios en los niveles de elafina durante el primer año después del TPH.

A) serie global; B) TPH de hermano HLA idéntico; C) TPH de donante no emparentado; D) TPH haploidentico; E) Trasplante de sangre de cordón umbilical.

Las determinaciones realizadas dentro de los 100 días pos-TPH mostraron un incremento significativo solo en el día +7, tanto en la serie global como en los diferentes tipos de trasplante, excepto en el TSCU. El incremento en el momento del exantema solo fue significativo en la serie global ( $P = 0,02$ ) y el TPH de hermano idéntico ( $P = 0,02$ ). Los niveles de elafina plasmática a los 6 y 12 meses del TPH estuvieron significativamente aumentados respecto a los niveles pre-TPH solo en la serie global ( $P = 0,002$ ;  $P = 0,05$ ) y en el TSCU ( $P = 0,04$ ;  $P = 0,05$ ).

### 5.6.2. Elafina plasmática según el desarrollo de EICH aguda y grado de severidad

En la Tabla 5.38 se muestran los niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH en días predeterminados (+7, +14, +21, +28) y en el momento de la aparición del

exantema, en los pacientes con y sin EICH aguda. No se observaron diferencias significativas en los niveles de elafina plasmática entre los dos grupos.

Tabla 5.38. Niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH según desarrollo de EICH aguda.

| Momento del estudio    | No EICHa   | EICHa       | P   |
|------------------------|------------|-------------|-----|
| <b>Pre-TPH, n</b>      | 44         | 75          | 0,5 |
| Mediana                | 6961       | 6960        |     |
| Extremos               | 2864-21646 | 2499-24255  |     |
| <b>Día +7, n</b>       |            |             | 0,4 |
| Mediana                | 10304      | 6960        |     |
| Extremos               | 2864-21646 | 2499-24255  |     |
| <b>Día +14, n</b>      |            |             | 0,5 |
| Mediana                | 8214       | 8234        |     |
| Extremos               | 1592-31851 | 1113-25414  |     |
| <b>Día +21, n</b>      |            |             | 0,7 |
| Mediana                | 7356       | 6305        |     |
| Extremos               | 1187-16580 | 2522-26313  |     |
| <b>Día +28, n</b>      |            |             | 0,8 |
| Mediana                | 7288       | 7159        |     |
| Extremos               | 1281-50805 | 1569-26589  |     |
| <b>Día exantema, n</b> |            |             | 0,5 |
| Mediana                |            | 8813        |     |
| Extremos               |            | 19022-42960 |     |

Niveles de elafina expresados en pg/mL.

En las Figura 5.42, Figura 5.43, Figura 5.44, Figura 5.45 y Figura 5.46 se muestran las comparaciones de los niveles de elafina plasmática en los pacientes con y sin EICH aguda, así como los grados 0-I versus II-IV y 0-II versus III-IV en diferentes periodos pos-TPH (día +7, +14, +21 y +28) y en el momento del exantema asociado a la EICH aguda. Ninguna de las comparaciones mostró diferencias estadísticamente significativas.

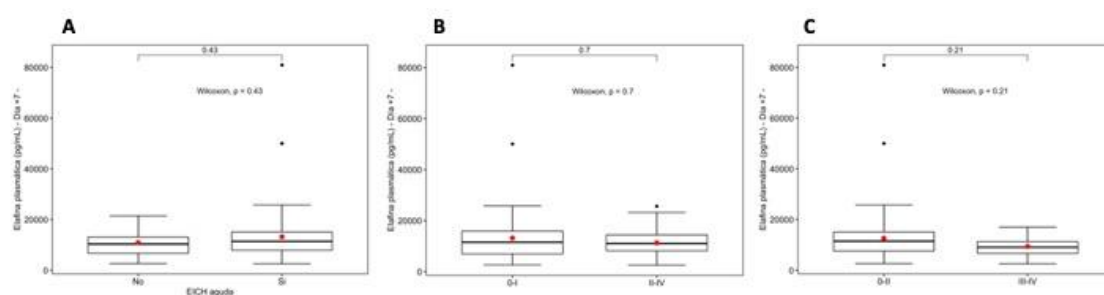


Figura 5.42. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día +7.

A) EICH aguda versus no EICH; B) No EICH aguda + grado I versus EICH aguda grado II-IV;  
C) No EICH aguda + grado I-II versus EICH aguda grado III-IV.

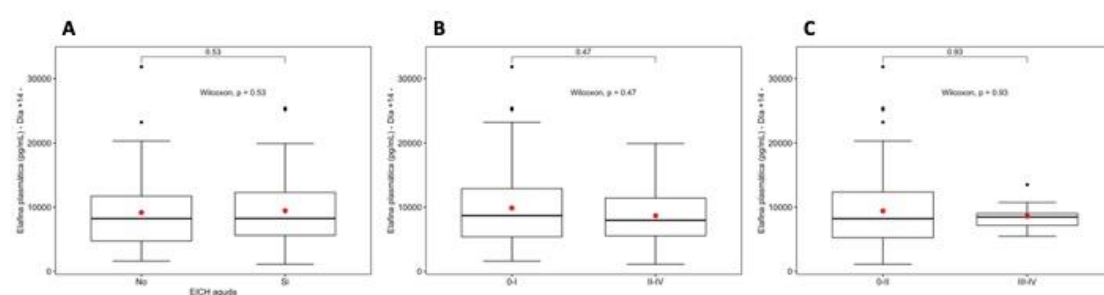


Figura 5.43. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día +14.

A) EICH aguda versus no EICH; B) No EICH aguda + grado I versus EICH aguda grado II-IV;  
C) No EICH aguda + grado I-II versus EICH aguda grado III-IV.

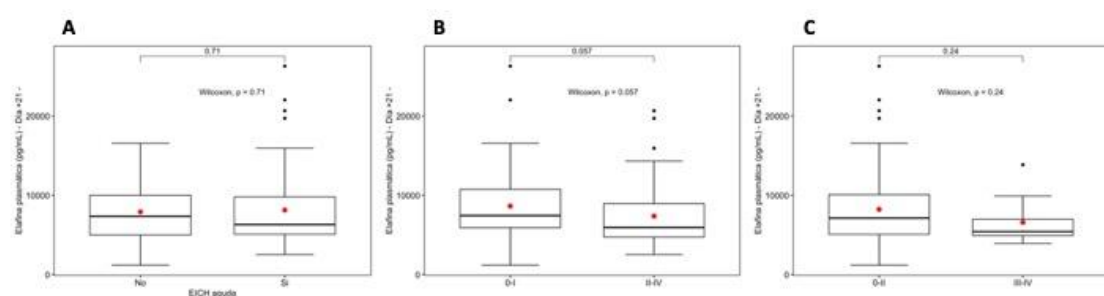


Figura 5.44. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día +21.

A) EICH aguda versus no EICH; B) No EICH aguda + grado I versus EICH aguda grado II-IV;  
C) No EICH aguda + grado I-II versus EICH aguda grado III-IV.

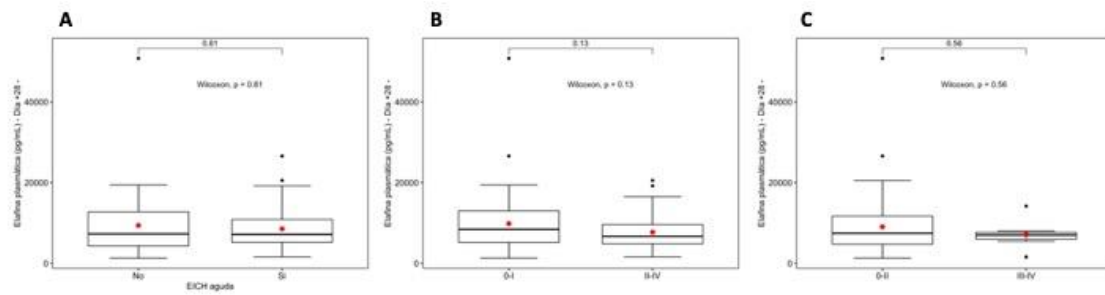


Figura 5.45. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día +28.

- A) EICH aguda versus no EICH; B) No EICH aguda + grado I versus EICH aguda grado II-IV;  
C) No EICH aguda + grado I-II versus EICH aguda grado III-IV.

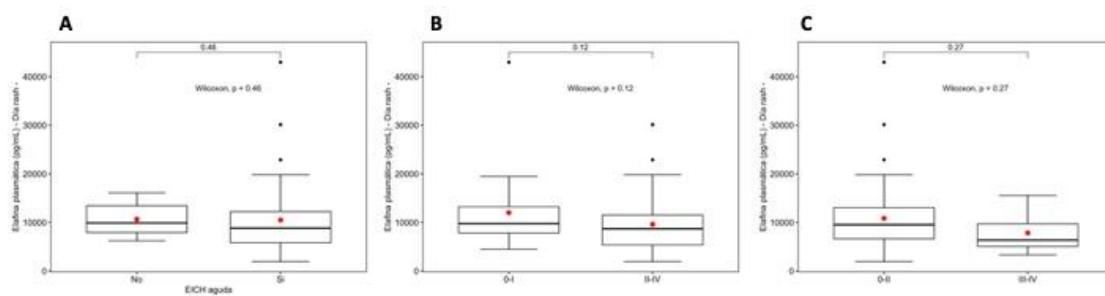


Figura 5.46. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el día del exantema.

- A) EICH aguda versus no EICH; B) No EICH aguda + grado I versus EICH aguda grado II-IV;  
C) No EICH aguda + grado I-II versus EICH aguda grado III-IV.

En la Tabla 5.39 se muestran los niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH en días predeterminados (+7, +14, +21, +28) y en el momento de la aparición del exantema según los grados de afectación cutánea. No se observaron diferencias significativas en los niveles de elafina plasmática entre los grupos.

Tabla 5.39. Niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH según gravedad cutánea en la EICH aguda.

| Momento del estudio    | No cutánea | Grado 1    | Grado 2    | Grado 3    | Grado 4     | P   |
|------------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-----|
| <b>Pre-TPH, n</b>      | 5          | 26         | 26         | 17         | 1           | 0,6 |
| Mediana                | 11391      | 7236       | 6455       | 7939       | 4134        |     |
| Extremos               | 3568-14803 | 3042-24255 | 2499-16220 | 3228-20560 | 4134-4134   |     |
| <b>Día +7, n</b>       |            |            |            |            |             | 0,8 |
| Mediana                | 14559      | 12507      | 11050      | 9460       | 11376       |     |
| Extremos               | 2551-17251 | 3271-50013 | 3222-80921 | 3618-25601 | 11376-11376 |     |
| <b>Día +14, n</b>      |            |            |            |            |             | 0,8 |
| Mediana                | 11612      | 9245       | 8544       | 6948       | 6320        |     |
| Extremos               | 4568-16013 | 1113-25414 | 1514-16008 | 3676-15938 | 6320-6320   |     |
| <b>Día +21, n</b>      |            |            |            |            |             | 0,1 |
| Mediana                | 10036      | 8580       | 5905       | 6157       | 5676        |     |
| Extremos               | 5370-19733 | 4174-26313 | 2522-20679 | 3078-15951 | 5676-5676   |     |
| <b>Día +28, n</b>      |            |            |            |            |             | 0,3 |
| Mediana                | 5955       | 9678       | 6282       | 6309       | 7984        |     |
| Extremos               | 4534-19204 | 3635-26589 | 1570-20518 | 1664-16487 | 7984-7984   |     |
| <b>Día exantema, n</b> |            |            |            |            |             | 0,9 |
| Mediana                | -          | 9518       | 7807       | 8808       | 10623       |     |
| Extremos               | -          | 4483-22867 | 1922-42960 | 2643-19819 | 10623-10623 |     |

Niveles de elafina expresados en pg/mL.

### 5.6.3. Elafina plasmática en la EICH aguda y en las toxicodermias

En la Tabla 5.40 y en la la Figura 5.47 se muestran los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes que desarrollaron EICH aguda y en una serie control de pacientes con toxicodermias. Las diferencias observadas no alcanzaron significación estadística ( $P = 0,08$ ).

Tabla 5.40. Niveles de elafina plasmática pre- y pos-TPH según desarrollo de EICH aguda.

| Momento del estudio | EICH aguda | Toxicodermia | P    |
|---------------------|------------|--------------|------|
| <b>Pre-TPH, n</b>   | 78         | 18           | 0,08 |
| Mediana             | 8712       | 12338        |      |
| Extremos            | 1922-42960 | 3205-59878   |      |

Niveles de elafina expresados en pg/mL.

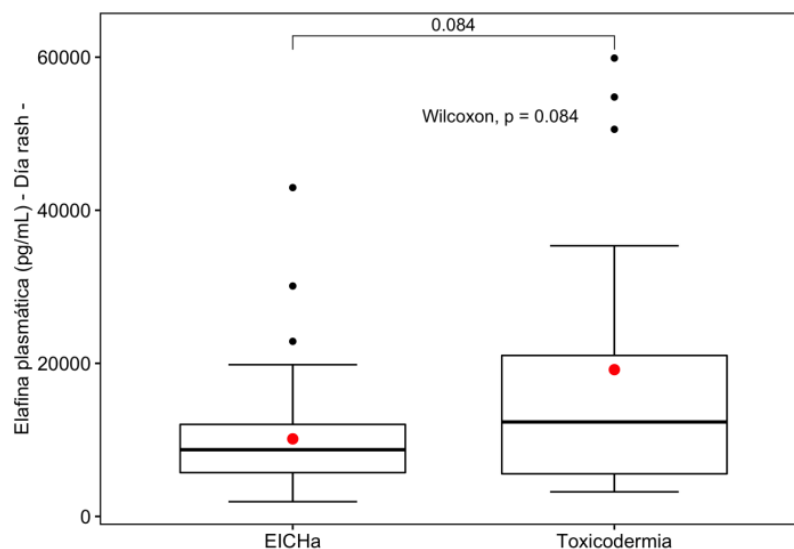


Figura 5.47. Comparación de los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes que desarrollaron EICH aguda y en una serie control de pacientes con toxicodermias.

#### 5.6.4. Impacto de la elafina plasmática en los resultados del trasplante

En los 56 pacientes que disponían de niveles de elafina plasmática en el momento del exantema por EICH aguda, se analizó el impacto de esta variable en la recaída, MSR y SG. Para ello, se dividieron en dos grupos según la media (10.505), mediana (9.186), primer cuartil (6.475) y tercer cuartil (12.850) de los niveles de elafina plasmática, cuyos resultados se muestran en la Tabla 5.41, Tabla 5.42 y Tabla 5.43. Ninguna de los cortes mostró tener significación estadística.

Tabla 5.4.1. Incidencia acumulada de recaída (95% IC) según los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes con EICH aguda.

| Variable                     | Eventos | N  | 12 meses      | 24 meses      | 36 meses      | 48 meses      | 60 meses      | P <sup>1</sup> |
|------------------------------|---------|----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| Total                        | 17      | 56 | 20 (10 - 31)  | 27 (16 - 39)  | 29 (17 - 41)  | 29 (17 - 41)  | 32 (20 - 46)  |                |
| Elafina plasmática (media)   |         |    |               |               |               |               |               | 0,8            |
| Alta                         |         |    | 23 (8,0 - 42) | 32 (14 - 52)  | 32 (14 - 52)  | 32 (14 - 52)  | 32 (14 - 52)  |                |
| Baja                         |         |    | 18 (7,0 - 32) | 24 (11 - 39)  | 26 (13 - 42)  | 26 (13 - 42)  | 33 (16 - 52)  |                |
| Elafina plasmática (mediana) |         |    |               |               |               |               |               | 0,7            |
| Alta                         |         |    | 21 (8,5 - 38) | 29 (13 - 46)  | 29 (13 - 46)  | 29 (13 - 46)  | 29 (13 - 46)  |                |
| Baja                         |         |    | 18 (6,3 - 34) | 25 (11 - 42)  | 29 (13 - 46)  | 29 (13 - 46)  | 39 (15 - 63)  |                |
| Elafina plasmática (Q1)      |         |    |               |               |               |               |               | >0,9           |
| Alta                         |         |    | 19 (8,8 - 32) | 29 (16 - 43)  | 29 (16 - 43)  | 29 (16 - 43)  | 33 (18 - 48)  |                |
| Baja                         |         |    | 21 (4,7 - 46) | 21 (4,7 - 46) | 29 (8,0 - 54) | 29 (8,0 - 54) | 29 (8,0 - 54) |                |
| Elafina plasmática (Q3)      |         |    |               |               |               |               |               | 0,9            |
| Alta                         |         |    | 21 (4,7 - 46) | 29 (8,0 - 54) | 29 (8,0 - 54) | 29 (8,0 - 54) | — (— - —)     |                |
| Baja                         |         |    | 19 (8,8 - 32) | 26 (14 - 40)  | 29 (16 - 43)  | 29 (16 - 43)  | 34 (18 - 50)  |                |

<sup>1</sup>Test de Gray

Tabla 5.42. Incidencia acumulada de MSR (95% IC) según los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes con EICH aguda.

| Variable                     | Eventos | N  | 12 meses      | 24 meses      | 36 meses      | 48 meses      | 60 meses      | P <sup>1</sup> |
|------------------------------|---------|----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| Total                        | 12      | 56 | 14 (5,9 - 25) | 25 (14 - 38)  | 25 (14 - 38)  | 25 (14 - 38)  | 25 (14 - 38)  |                |
| Elafina plasmática (media)   |         |    |               |               |               |               |               | 0,8            |
| Alta                         |         |    | 16 (3,6 - 35) | 29 (9,7 - 51) | 29 (9,7 - 51) | 29 (9,7 - 51) | 29 (9,7 - 51) |                |
| Baja                         |         |    | 12 (3,8 - 26) | 23 (10 - 40)  | 23 (10 - 40)  | 23 (10 - 40)  | 23 (10 - 40)  |                |
| Elafina plasmática (mediana) |         |    |               |               |               |               |               | 0,5            |
| Alta                         |         |    | 12 (2,9 - 28) | 31 (13 - 51)  | 31 (13 - 51)  | 31 (13 - 51)  | 31 (13 - 51)  |                |
| Baja                         |         |    | 15 (4,6 - 32) | 20 (6,9 - 37) | 20 (6,9 - 37) | 20 (6,9 - 37) | 20 (6,9 - 37) |                |
| Elafina plasmática (Q1)      |         |    |               |               |               |               |               | 0,3            |
| Alta                         |         |    | 10 (3,2 - 22) | 23 (10 - 38)  | 23 (10 - 38)  | 23 (10 - 38)  | 23 (10 - 38)  |                |
| Baja                         |         |    | 23 (4,9 - 48) | 32 (8,8 - 60) | 32 (8,8 - 60) | 32 (8,8 - 60) | 32 (8,8 - 60) |                |
| Elafina plasmática (Q3)      |         |    |               |               |               |               |               | 0,4            |
| Alta                         |         |    | 17 (2,3 - 43) | 38 (9,9 - 66) | 38 (9,9 - 66) | 38 (9,9 - 66) | — (— - —)     |                |
| Baja                         |         |    | 13 (4,6 - 26) | 22 (10 - 37)  | 22 (10 - 37)  | 22 (10 - 37)  | 22 (10 - 37)  |                |

<sup>1</sup>Test de Gray



Tabla 5.43. Supervivencia global (95% IC) según los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema en los pacientes con EICH aguda.

| Variable                     | Eventos | N  | 12 meses     | 24 meses     | 36 meses     | 48 meses     | 60 meses     | P <sup>1</sup> |
|------------------------------|---------|----|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------|
| Total                        | 28      | 56 | 75 (64- 87)  | 62 (51 - 77) | 52 (40 - 67) | 49 (37 - 65) | 49 (37 - 65) |                |
| Elafina plasmática (media)   |         |    |              |              |              |              |              | 0,5            |
| Alta                         |         |    | 68 (51 - 91) | 59 (42 - 84) | 45 (29 - 72) | 45 (29 - 72) | 45 (29 - 72) |                |
| Baja                         |         |    | 79 (67 - 94) | 65 (50 - 83) | 56 (41 - 75) | 51 (36 - 72) | 51 (36 - 72) |                |
| Elafina plasmática (mediana) |         |    |              |              |              |              |              | 0,5            |
| Alta                         |         |    | 71 (57 - 90) | 57 (41 - 79) | 46 (31 - 69) | 46 (31 - 69) | 46 (31 - 69) |                |
| Baja                         |         |    | 79 (65 - 95) | 68 (53 - 88) | 57 (41 - 79) | 51 (34 - 75) | 51 (34 - 75) |                |
| Elafina plasmática (Q1)      |         |    |              |              |              |              |              | 0,5            |
| Alta                         |         |    | 76 (64 - 90) | 64 (51 - 81) | 52 (39 - 70) | 52 (39 - 70) | 52 (39 - 70) |                |
| Baja                         |         |    | 71 (51 - 99) | 57 (36 - 90) | 50 (30 - 84) | 38 (17 - 81) | 38 (17 - 81) |                |
| Elafina plasmática (Q3)      |         |    |              |              |              |              |              | 0,5            |
| Alta                         |         |    | 71 (51 - 99) | 57 (36 - 90) | 43 (23 - 78) | 43 (23 - 78) | — (— - —)    |                |
| Baja                         |         |    | 76 (64 - 90) | 64 (51 - 81) | 55 (42 - 72) | 51 (38 - 69) | 51 (38 - 69) |                |

<sup>1</sup>Pruebas de log-rank

### 5.7. Estudio de las poblaciones linfocitarias pos-TPH

En la Tabla 5.44 se muestran las medianas y extremos de los recuentos de las distintas poblaciones linfocitarias en los días 100, 180 y 360 después del TPH.

Tabla 5.44. Recuentos de poblaciones de linfocitos en los días 100, 180 y 365 postrasplante.

| Tipo de linfocitos            | Células/ $\mu$ l<br>Día 100 | Células/ $\mu$ l<br>Día 180 | Células/ $\mu$ l<br>Día 365 |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <b>Linfocitos totales, n</b>  | 80                          | 63                          | 60                          |
| Mediana                       | 580                         | 1048                        | 1659                        |
| Extremos                      | 40-3707                     | 27-8200                     | 150-6128                    |
| <b>Linfocitos T, n</b>        | 80                          | 63                          | 60                          |
| Mediana                       | 391                         | 719                         | 1128                        |
| Extremos                      | 1-3178                      | 2-3917                      | 5-5841                      |
| <b>Linfocitos T CD4, n</b>    | 80                          | 63                          | 60                          |
| Mediana                       | 156                         | 219                         | 337                         |
| Extremos                      | 1-1157                      | 1-658                       | 2-999                       |
| <b>Linfocitos T CD8, n</b>    | 80                          | 63                          | 60                          |
| Mediana                       | 195                         | 403                         | 589                         |
| Extremos                      | 1-2766                      | 1-3660                      | 3-4814                      |
| <b>Linfocitos B, n</b>        | 80                          | 63                          | 60                          |
| Mediana                       | 18                          | 34                          | 139                         |
| Extremos                      | 0-810                       | 0-1211                      | 0-1763                      |
| <b>Células NK, n</b>          | 80                          | 63                          | 59                          |
| Mediana                       | 146                         | 141                         | 187                         |
| Extremos                      | 4-552                       | 10-513                      | 14-1925                     |
| <b>Linfocitos T PD-1, n</b>   | 78                          | 62                          | 56                          |
| Mediana                       | 138                         | 255                         | 487                         |
| Extremos                      | 0-2185                      | 0-2078                      | 0-2566                      |
| <b>Linfocitos T CTLA-4, n</b> | 79                          | 62                          | 56                          |
| Mediana                       | 5                           | 8                           | 11                          |
| Extremos                      | 0-299                       | 0-131                       | 0-212                       |
| <b>Linfocitos T CD45RA, n</b> | 78                          | 61                          | 52                          |
| Mediana                       | 98                          | 191                         | 543                         |
| Extremos                      | 0-1834                      | 0-2061                      | 0-2691                      |
| <b>Linfocitos T CD45RO, n</b> | 78                          | 60                          | 52                          |
| Mediana                       | 194                         | 285                         | 451                         |
| Extremos                      | 0-2026                      | 0-2163                      | 0-4730                      |
| <b>Linfocitos Tregs, n</b>    | 75                          | 50                          | 56                          |

|                               |           |           |           |
|-------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Mediana                       | 1         | 3         | 2         |
| Extremos                      | 0-30      | 0-28      | 0-27      |
| <b>Linfocitos B PD-1, n</b>   | <b>78</b> | <b>61</b> | <b>57</b> |
| Mediana                       | 0         | 0         | 2         |
| Extremos                      | 0-14      | 0-16      | 0-18      |
| <b>Linfocitos B CTLA-4, n</b> | <b>79</b> | <b>61</b> | <b>57</b> |
| Mediana                       | 0         | 0         | 1         |
| Extremos                      | 0-44      | 0-69      | 0-38      |

PD-1; Programmed death protein 1; CTLA-4: cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4, Tregs: células T reguladoras.

Los cambios relacionados con la recuperación inmunológica durante el primer año postrasplante mostraron un incremento progresivo significativo en prácticamente todas las poblaciones linfocitarias analizadas, salvo algunas excepciones (Figura 5.48). La comparación de las frecuencias de células NK y linfocitos T CD45RO en los días 100 y 180 no alcanzaron diferencias significativas, aunque si hubo un incremento significativo al año del TPH. La comparación de las frecuencias de linfocitos T CTLA4 entre los días 100 y 180, y entre los días 180 y 365 tampoco mostraron diferencias significativas, pero la comparación conjunta de los tres puntos temporales si fue significativa ( $P = 0.0059$ ). Finalmente, el leve incremento observado en los linfocitos Tregs entre los días 100 y 180 se siguió de un leve descenso entre los días 180 y 365, aunque ninguno alcanzó diferencias significativas.

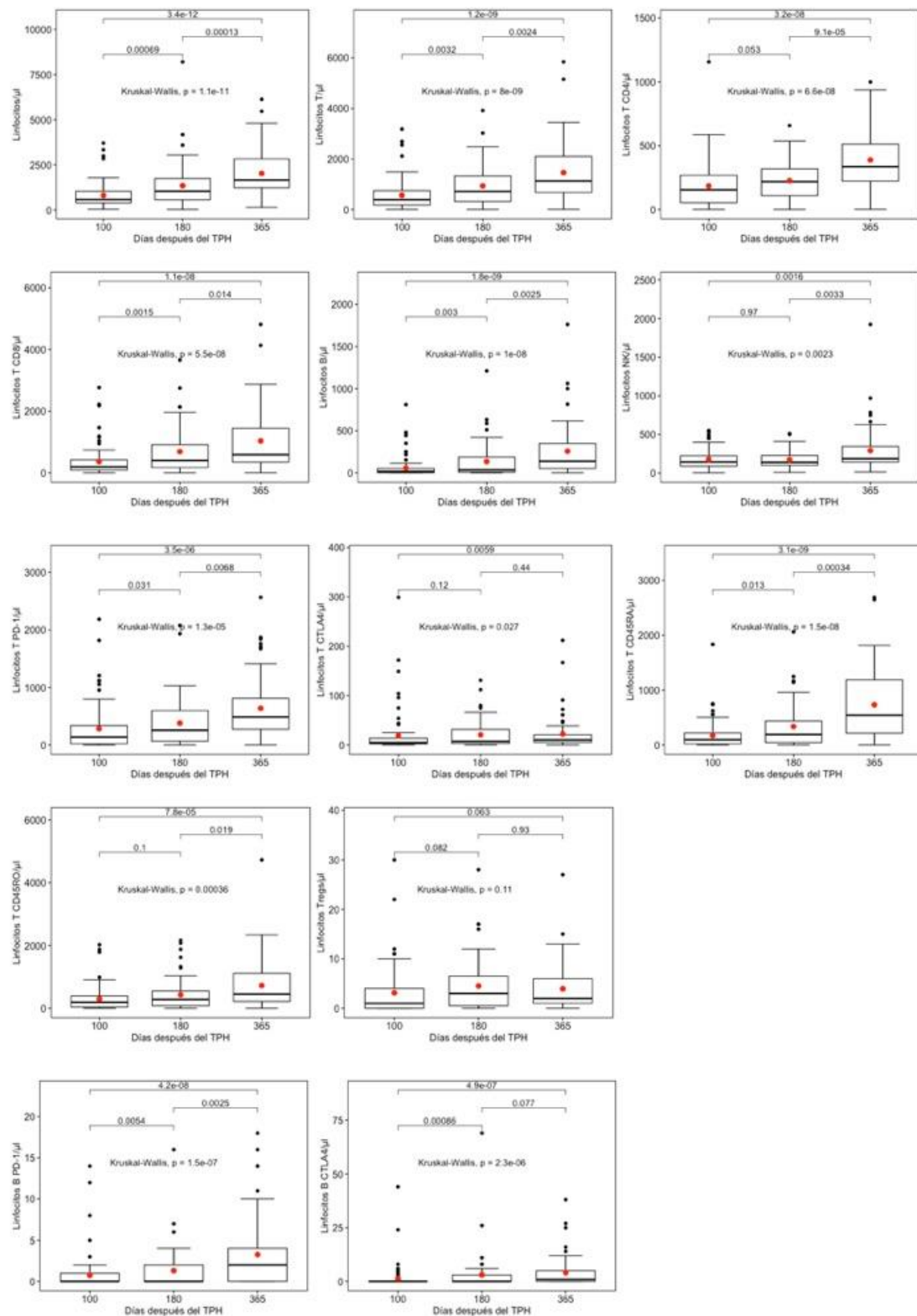


Figura 5.48. Cambios en las principales poblaciones linfocitarias durante el primer año después del TPH.

**5.7.1. Poblaciones linfocitarias pos-TPH según el tipo de donante**

En la Tabla 5.45 se muestran las medianas y extremos de los recuentos de las distintas poblaciones linfocitarias en los días 100, 180 y 360 después del TPH según el tipo de donante. La comparación de medias en las diferentes poblaciones linfocitarias según el tipo de donante mostró diferencias significativas a los 100 días y a los 180 días en los linfocitos T ( $P = 0,002$ ;  $0.004$ ), linfocitos T CD4<sup>+</sup> ( $P = 0,008$ ;  $0.059$ ), linfocitos T CD8<sup>+</sup> ( $P < 0,001$ ;  $0.001$ ) y linfocitos T CD454RA ( $P = 0,004$ ;  $0.006$ ). También hubo diferencias significativas a los 180 días en los linfocitos T CD454RO ( $P = 0,001$ ) y a los 365 días en los linfocitos T ( $P = 0,01$ ) y linfocitos T CD8 ( $P = 0,01$ ).



Tabla 5.45. Recuentos de poblaciones de linfocitos pos-TPH según el tipo de donante.

|                               | DHI     |          |          | DNE      |         |          | Haplo   |          |          | SCU      |         |          |
|-------------------------------|---------|----------|----------|----------|---------|----------|---------|----------|----------|----------|---------|----------|
|                               | 100     | 180      | 365      | 100      | 180     | 365      | 100     | 180      | 365      | 100      | 180     | 365      |
| <b>Tipo de linfocitos</b>     |         |          |          |          |         |          |         |          |          |          |         |          |
| <b>Linfocitos totales, n</b>  | 36      | 28       | 26       | 17       | 14      | 13       | 16      | 14       | 12       | 11       | 7       | 9        |
| Mediana                       | 715     | 1056     | 1477     | 549      | 1025    | 1404     | 701     | 1745     | 2503     | 418      | 560     | 1575     |
| Extremos                      | 40-2991 | 193-2400 | 150-5467 | 117-3336 | 83-3589 | 370-4123 | 60-3707 | 417-4177 | 877-6128 | 235-1405 | 27-8200 | 335-4809 |
| <b>Linfocitos T, n</b>        | 36      | 28       | 26       | 17       | 14      | 13       | 16      | 14       | 12       | 11       | 7       | 9        |
| Mediana                       | 528     | 714      | 1173     | 350      | 653     | 834      | 430     | 1213     | 1815     | 32       | 87      | 531      |
| Extremos                      | 19-2553 | 74-1834  | 63-5154  | 69-2693  | 36-3023 | 179-3451 | 1-3178  | 170-3917 | 472-5841 | 2-439    | 2-1199  | 5-1154   |
| <b>Linfocitos T CD4, n</b>    | 36      | 28       | 26       | 17       | 14      | 13       | 16      | 14       | 12       | 11       | 7       | 9        |
| Mediana                       | 245     | 234      | 340      | 74       | 195     | 297      | 194     | 272      | 427      | 38       | 72      | 350      |
| Extremos                      | 8-469   | 4-658    | 29-999   | 11-587   | 4-356   | 29-675   | 1-1157  | 49-538   | 169-856  | 1-350    | 1-508   | 2-603    |
| <b>Linfocitos T CD8, n</b>    | 36      | 28       | 26       | 17       | 14      | 13       | 16      | 14       | 12       | 11       | 7       | 9        |
| Mediana                       | 248     | 403      | 636      | 198      | 394     | 540      | 228     | 859      | 1354     | 9        | 15      | 322      |
| Extremos                      | 11-2222 | 30-1553  | 34-4133  | 50-2179  | 24-2751 | 134-2869 | 1-2766  | 88-3660  | 205-4814 | 1-153    | 1-552   | 3-815    |
| <b>Linfocitos B, n</b>        | 36      | 28       | 26       | 17       | 14      | 13       | 16      | 14       | 12       | 11       | 7       | 9        |
| Mediana                       | 13      | 42       | 115      | 25       | 23      | 143      | 4       | 31       | 131      | 97       | 173     | 326      |
| Extremos                      | 0-154   | 0-631    | 0-616    | 0-444    | 0-587   | 1-600    | 0-217   | 0-512    | 0-611    | 0-810    | 14-1211 | 0-1763   |
| <b>Células NK, n</b>          | 36      | 28       | 26       | 17       | 14      | 13       | 16      | 14       | 11       | 11       | 7       | 9        |
| Mediana                       | 140     | 137      | 168      | 154      | 128     | 187      | 159     | 235      | 200      | 199      | 208     | 389      |
| Extremos                      | 5-460   | 33-502   | 14-970   | 14-552   | 17-513  | 76-748   | 4-532   | 28-382   | 120-785  | 111-394  | 10-362  | 174-1925 |
| <b>Linfocitos T PD-1, n</b>   | 34      | 28       | 23       | 17       | 14      | 12       | 16      | 13       | 12       | 11       | 7       | 9        |
| Mediana                       | 187     | 345      | 488      | 85       | 384     | 535      | 222     | 313      | 547      | 67       | 25      | 207      |
| Extremos                      | 2-1118  | 0-1030   | 0-1842   | 0-2185   | 0-2078  | 150-2566 | 0-1819  | 79-1932  | 0-1673   | 0-366    | 0-809   | 0-1763   |
| <b>Linfocitos T CTLA-4, n</b> | 35      | 28       | 23       | 17       | 14      | 11       | 16      | 12       | 12       | 11       | 7       | 9        |

|                               |        |        |        |         |         |          |        |          |        |       |       |        |
|-------------------------------|--------|--------|--------|---------|---------|----------|--------|----------|--------|-------|-------|--------|
| Mediana                       | 5      | 8      | 14     | 7       | 6       | 10       | 5      | 17       | 9      | 2     | 1     | 10     |
| Extremos                      | 0-299  | 0-131  | 0-212  | 1-149   | 0-112   | 4-29     | 0-15   | 3-57     | 0-48   | 0-96  | 0-78  | 0-167  |
| <b>Linfocitos T CD45RA, n</b> | 35     | 28     | 22     | 17      | 14      | 10       | 15     | 13       | 12     | 11    | 6     | 8      |
| Mediana                       | 186    | 258    | 605    | 69      | 179     | 575      | 89     | 354      | 667    | 9     | 2     | 223    |
| Extremos                      | 2-1834 | 0-1143 | 2-2691 | 1-752   | 12-1166 | 114-2648 | 0-739  | 32-2061  | 1-1777 | 0-121 | 0-191 | 0-1134 |
| <b>Linfocitos T CD45RO, n</b> | 35     | 27     | 22     | 17      | 14      | 10       | 15     | 13       | 12     | 11    | 6     | 8      |
| Mediana                       | 214    | 313    | 390    | 103     | 269     | 591      | 275    | 612      | 962    | 65    | 17    | 206    |
| Extremos                      | 3-908  | 1-919  | 4-2135 | 20-2026 | 19-2077 | 75-2339  | 0-1789 | 130-2163 | 1-4730 | 0-380 | 0-156 | 0-1158 |
| <b>Linfocitos Tregs, n</b>    | 33     | 27     | 23     | 17      | 12      | 12       | 15     | 13       | 12     | 11    | 7     | 9      |
| Mediana                       | 2      | 2      | 2      | 1       | 4       | 2        | 2      | 4        | 3      | 1     | 0     | 3      |
| Extremos                      | 0-12   | 0-17   | 0-27   | 0-22    | 0-9     | 1-7      | 0-30   | 0-28     | 0-15   | 0-6   | 0-11  | 0-10   |
| <b>Linfocitos B PD-1, n</b>   | 34     | 27     | 23     | 17      | 14      | 13       | 16     | 13       | 12     | 11    | 7     | 9      |
| Mediana                       | 0      | 0      | 2      | 0       | 0       | 2        | 0      | 0        | 0      | 0     | 3     | 2      |
| Extremos                      | 0-1    | 0-7    | 0-16   | 0-14    | 0-4     | 0-18     | 0-8    | 0-3      | 0-6    | 0-12  | 0-16  | 0-14   |
| <b>Linfocitos B CTLA-4, n</b> | 35     | 27     | 23     | 17      | 14      | 13       | 16     | 13       | 12     | 11    | 7     | 9      |
| Mediana                       | 0      | 0      | 1      | 0       | 1       | 2        | 0      | 235      | 0      | 0     | 3     | 1      |
| Extremos                      | 0-6    | 0-69   | 0-38   | 0-8     | 0-5     | 0-12     | 0-44   | 28-382   | 0-11   | 0-24  | 0-11  | 0-27   |

Los recuentos se expresan en células por µl.

DHI: donante hermano HLA idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: trasplante haploidéntico; SCU: trasplante de sangre de cordón umbilical; PD-1: Programmed death protein 1; CTLA-4: cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4. Tregs: células T reguladoras.



### 5.7.2. Impacto de la EICH aguda en las poblaciones linfocitarias

En la Tabla 5.46 se muestran las medianas y extremos de los recuentos de las distintas poblaciones linfocitarias en los pacientes que desarrollaron o no una EICH aguda. La comparación de medias en las diferentes poblaciones linfocitarias en las dos cohortes mostró diferencias significativas a los 100 días en linfocitos T ( $P = 0,03$ ), linfocitos T CD8<sup>+</sup> ( $P = 0,005$ ), linfocitos T CD454RA ( $P = 0,006$ ) y linfocitos B ( $P = 0,01$ ), estando próximos a la significación los linfocitos absolutos ( $P = 0,07$ ), linfocitos T PD-1 ( $P = 0,06$ ), linfocitos T CTLA4 ( $P = 0,06$ ), linfocitos T CD454RO ( $P = 0,07$ ) y linfocitos Tregs ( $P = 0,08$ ). También hubo diferencias significativas a los 180 días en los linfocitos absolutos ( $P = 0,04$ ), linfocitos T CD4<sup>+</sup> ( $P = 0,008$ ), linfocitos B ( $P = 0,003$ ), linfocitos B PD-1 ( $P = 0,02$ ), linfocitos B CTLA4 ( $P = 0,02$ ), y linfocitos Tregs ( $P = 0,002$ ). En cambio, a los 365 días solo hubo una tendencia a la significación en los linfocitos B ( $P = 0,06$ ).

Tabla 5.46. Recuentos de poblaciones de linfocitos pos-TPH según la EICH aguda.

|                              | EICH aguda |         |          | No EICH aguda |          |          |
|------------------------------|------------|---------|----------|---------------|----------|----------|
| Tipo linfocitos              | Día 100    | Día 180 | Día 365  | Día 100       | Día 180  | Día 365  |
| <b>Linfocitos totales, n</b> | 52         | 39      | 39       | 28            | 24       | 21       |
| Mediana                      | 525        | 830     | 1575     | 771           | 1215     | 1781     |
| Extremos                     | 40-3707    | 27-4177 | 335-6128 | 203-2991      | 272-8200 | 150-5467 |
| <b>Linfocitos T, n</b>       | 52         | 39      | 39       | 28            | 24       | 21       |
| Mediana                      | 301        | 509     | 1006     | 474           | 810      | 1301     |
| Extremos                     | 1-3178     | 2-3917  | 5-5841   | 104-2553      | 123-2143 | 63-5154  |
| <b>Linfocitos T CD4, n</b>   | 52         | 39      | 39       | 28            | 24       | 21       |
| Mediana                      | 142        | 140     | 330      | 210           | 252      | 340      |
| Extremos                     | 1-1157     | 1-538   | 2-938    | 17-587        | 34-658   | 29-999   |
| <b>Linfocitos T CD8, n</b>   | 52         | 39      | 39       | 28            | 24       | 21       |
| Mediana                      | 151        | 326     | 540      | 292           | 463      | 812      |
| Extremos                     | 1-2766     | 1-3660  | 3-4814   | 41-2222       | 90-1794  | 34-4133  |
| <b>Linfocitos B, n</b>       | 52         | 39      | 39       | 28            | 24       | 21       |
| Mediana                      | 7          | 24      | 120      | 30            | 155      | 316      |
| Extremos                     | 0-810      | 0-512   | 0-1763   | 0-481         | 0-1211   | 0-1060   |
| <b>Células NK, n</b>         | 52         | 39      | 39       | 28            | 24       | 20       |
| Mediana                      | 140        | 162     | 188      | 157           | 126      | 180      |
| Extremos                     | 4-552      | 10-513  | 14-1925  | 36-460        | 57-502   | 76-970   |
| <b>Linfocitos T PD-1, n</b>  | 50         | 38      | 37       | 28            | 24       | 19       |
| Mediana                      | 88         | 206     | 485      | 212           | 408      | 491      |

|                               |        |        |        |         |        |        |
|-------------------------------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|
| Extremos                      | 0-1819 | 0-2078 | 0-1870 | 0-2185  | 0-887  | 0-2566 |
| <b>Linfocitos T CTLA-4, n</b> | 51     | 38     | 37     | 28      | 24     | 19     |
| Mediana                       | 4      | 8      | 10     | 8       | 7      | 13     |
| Extremos                      | 0-172  | 0-112  | 0-167  | 1-299   | 0-131  | 0-212  |
| <b>Linfocitos T CD45RA, n</b> | 50     | 38     | 34     | 28      | 23     | 18     |
| Mediana                       | 67     | 103    | 495    | 166     | 227    | 607    |
| Extremos                      | 752    | 0-2061 | 0-1816 | 10-1834 | 0-1166 | 1-2691 |
| <b>Linfocitos T CD45RO, n</b> | 50     | 37     | 34     | 28      | 23     | 18     |
| Mediana                       | 106    | 186    | 390    | 235     | 382    | 687    |
| Extremos                      | 0-1878 | 0-2163 | 0-4730 | 23-2026 | 1-1035 | 1-2135 |
| <b>Linfocitos Tregs, n</b>    | 49     | 35     | 37     | 26      | 24     | 19     |
| Mediana                       | 1      | 1      | 2      | 2       | 6      | 3      |
| Extremos                      | 0-30   | 0-28   | 0-27   | 0-12    | 0-17   | 0-12   |
| <b>Linfocitos B PD-1, n</b>   | 50     | 37     | 37     | 28      | 24     | 20     |
| Mediana                       | 0      | 0      | 2      | 0       | 1      | 3      |
| Extremos                      | 0-12   | 0-6    | 0-18   | 0-14    | 0-16   | 0-16   |
| <b>Linfocitos B CTLA-4, n</b> | 51     | 37     | 37     | 28      | 24     | 20     |
| Mediana                       | 0      | 0      | 1      | 0       | 1      | 2      |
| Extremos                      | 0-24   | 0-26   | 0-27   | 0-44    | 0-69   | 0-38   |

Los recuentos se expresan en células por  $\mu$ l

Tregs: células T reguladoras; PD-1: Programmed death protein 1; CTLA-4: cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4.

### 5.7.3. Impacto de la EICH crónica en las poblaciones linfocitarias

En la Tabla 5.47 se muestran las medianas y extremos de los recuentos de las distintas poblaciones linfocitarias en los pacientes que desarrollaron o no una EICH crónica. La comparación de medias en las diferentes poblaciones linfocitarias en las dos cohortes no mostró diferencias significativas en ninguno de los tres puntos temporales analizados.

Tabla 5.47. Recuentos de poblaciones de linfocitos pos-TPH según la EICH crónica.

|                               | EICH crónica |         |          | No EICH crónica |         |          |
|-------------------------------|--------------|---------|----------|-----------------|---------|----------|
| Tipo linfocitos               | 100          | 180     | 365      | 100             | 180     | 365      |
| <b>Linfocitos totales, n</b>  | 58           | 50      | 52       | 22              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 602          | 1052    | 1687     | 532             | 1024    | 1576     |
| Extremos                      | 40-3707      | 83-8200 | 335-6128 | 52-2842         | 27-2963 | 150-3166 |
| <b>Linfocitos T, n</b>        | 58           | 50      | 52       | 22              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 413          | 714     | 1093     | 356             | 788     | 1290     |
| Extremos                      | 1-3178       | 2-3917  | 5-5841   | 19-2118         | 2-2426  | 63-2585  |
| <b>Linfocitos T CD4, n</b>    | 58           | 50      | 52       | 22              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 156          | 228     | 349      | 145             | 161     | 262      |
| Extremos                      | 1-1157       | 1-658   | 2-999    | 9-587           | 1-474   | 29-463   |
| <b>Linfocitos T CD8, n</b>    | 58           | 50      | 52       | 22              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 174          | 392     | 537      | 235             | 483     | 930      |
| Extremos                      | 1-2766       | 1-3660  | 3-4814   | 5-1468          | 1-1962  | 34-2148  |
| <b>Linfocitos B, n</b>        | 58           | 50      | 52       | 32              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 16           | 42      | 143      | 20              | 20      | 117      |
| Extremos                      | 0-810        | 0-1211  | 0-1763   | 0-444           | 0-587   | 0-317    |
| <b>Células NK, n</b>          | 58           | 50      | 51       | 22              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 143          | 151     | 187      | 157             | 124     | 250      |
| Extremos                      | 4-552        | 28-513  | 14-1925  | 23-460          | 10-382  | 80-785   |
| <b>Linfocitos T PD-1, n</b>   | 57           | 49      | 48       | 21              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 123          | 249     | 483      | 153             | 487     | 558      |
| Extremos                      | 0-1819       | 0-2078  | 0-1842   | 2-2185          | 3-854   | 0-2566   |
| <b>Linfocitos T CTLA-4, n</b> | 57           | 49      | 48       | 22              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 5            | 9       | 11       | 8               | 7       | 12       |
| Extremos                      | 0-299        | 0-131   | 0-212    | 0-149           | 0-57    | 0-29     |
| <b>Linfocitos T CD45RA, n</b> | 56           | 48      | 45       | 22              | 13      | 7        |
| Mediana                       | 98           | 175     | 498      | 101             | 227     | 645      |
| Extremos                      | 0-1834       | 0-2061  | 0-2691   | 2-739           | 0-1249  | 1-2648   |
| <b>Linfocitos T CD45RO, n</b> | 56           | 47      | 45       | 22              | 13      | 7        |
| Mediana                       | 194          | 223     | 394      | 199             | 482     | 795      |
| Extremos                      | 0-1878       | 0-2163  | 0-4730   | 3-2026          | 3-1881  | 1-1947   |
| <b>Linfocitos Tregs, n</b>    | 54           | 46      | 49       | 21              | 13      | 7        |
| Mediana                       | 1            | 4       | 2        | 2               | 1       | 2        |
| Extremos                      | 0-30         | 0-28    | 0-27     | 0-11            | 0-9     | 0-6      |
| <b>Linfocitos B PD-1, n</b>   | 57           | 48      | 49       | 21              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 0            | 1       | 2        | 0               | 0       | 2        |
| Extremos                      | 0-12         | 0-16    | 0-16     | 0-14            | 0-4     | 0-18     |
| <b>Linfocitos B CTLA-4, n</b> | 57           | 48      | 49       | 22              | 13      | 8        |
| Mediana                       | 0            | 0       | 1        | 0               | 1       | 2        |
| Extremos                      | 0-44         | 0-69    | 0-38     | 0-8             | 0-5     | 0-8      |

Los recuentos se expresan en células por  $\mu$ l

Tregs: células T reguladoras; PD-1: Programmed death protein 1; CTLA-4: cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4.



## **6.DISCUSIÓN**



Dada la diversidad de aspectos que han sido analizados en esta tesis doctoral, la discusión y comentarios pertinentes han sido estructurados en varios apartados como sigue: 1) A propósito del diseño, objetivos y otros aspectos metodológicos del estudio; 2) A propósito de las características de la serie y los resultados del trasplante; 3) A propósito de EICH aguda; 4) A propósito de la EICH crónica; 5) A propósito de los estudios histológicos en la EICH aguda y crónica, y en las toxicodermias; 6) A propósito del valor de la elafina plasmática como biomarcador de EICH cutánea; y 7) A propósito de la recuperación celular inmune postrasplante y su relación con la EICH.

### **6.1. A propósito del diseño, objetivos y otros aspectos metodológicos del estudio**

Siendo la EICH la principal causa de morbilidad y, después de la recaída, la segunda causa de mortalidad en el alo-TPH, son aún muchos los aspectos de esta complicación que, por su carácter controvertido, merecen ser investigados. Es más que probable que conocer mejor las claves que condicionan la aparición de una EICH y la precocidad en su diagnóstico pueden ser determinantes en la adopción de medidas preventivas y terapéuticas más eficaces. Ello redundaría en una disminución de la morbilidad y mortalidad asociada a la EICH con la consiguiente mejoría de la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes sometidos a un alo-TPH. Basándonos en estas premisas, concebimos este estudio prospectivo como proyecto de tesis doctoral haciendo un seguimiento minucioso y sistemático durante un año de todos los pacientes sometidos a alo-TPH durante dos años consecutivos. Naturalmente, los pacientes que desarrollaron alteraciones cutáneas durante este periodo fueron sometidos a un especial escrutinio y recogida de una exhaustiva información clínica, histológica, así como el estudio de las poblaciones linfocitarias y potenciales biomarcadores de EICH. La diversidad de factores que intervienen en el desarrollo de la EICH, como la edad, la fuente de progenitores, el tipo de donante y las estrategias de profilaxis, entre otros, ha supuesto una dificultad añadida para alcanzar la potencia estadística suficiente en algunos supuestos. Pero, a su vez, dicha diversidad, correspondiente a un “mundo real”, nos ha permitido reconocer algunas diferencias en la incidencia y características de la EICH, según las variables antes mencionadas y otras, que podrían ser útiles en el cuidado de estos pacientes en el futuro. Los sistemas de gradación de la EICH aguda y crónica usados en el presente

estudio han sido ampliamente comentados y discutidos en los apartados 1.2.3.4 y 1.2.4.5 de la Introducción, respectivamente.

### 6.2. A propósito de las características de la serie y los resultados del trasplante

En lo que respecta a las características de la serie, ésta tiene una distribución relativamente balanceada de tres de las opciones disponibles de donantes y fuentes para los pacientes que no disponen de un DHI (45%), como son DNE de sangre periférica (19%) y de SCU (13%), así como de donante familiar haploidéntico de sangre periférica (23%). Por razones principalmente logísticas, la médula ósea como fuente de progenitores fue usada solo en un TPH de DHI. La distribución de otra variable con potencial influencia en la tasa de EICH, como es la edad, muestra que un tercio de la serie tenía más de 50 años. Otro aspecto de interés a resaltar es la desigual distribución de pacientes que había recibido un TPH previo entre las cohortes según el tipo de TPH, siendo significativamente superior en las cohortes de DHI y haploidéntico. La abrumadora diferencia en la dosis celular infundida en el TSCU con respecto al resto de trasplantes es, sin embargo, algo inherente a este tipo de TPH, lo que sin duda también determinó algunas de las diferencias observadas en algunos resultados como la velocidad del injerto y otros que discutiremos más adelante.

El diseño del estudio no nos permite analizar diferencias en la tasa de injerto, ya que debido a que el objetivo principal del estudio está centrado en la EICH, la ausencia de injerto fue un criterio de exclusión. Sin embargo, sí pudimos analizar la velocidad del injerto y constatar una mayor rapidez en el TPH de DHI con respecto a los demás. En cambio, la mayor velocidad de injerto mieloide y plaquetar reportada en el TPH haploidéntico comparado con el TSCU en estudios recientes (Ruggeri *et al*, 2015; Giannotti *et al*, 2018; Sanz *et al*, 2020; E. *et al*, 2021), no se puso de manifiesto en el presente estudio, siendo la explicación más probable el tamaño muestral y una favorable selección de unidades de SCU con dosis más altas de CNT y células CD34<sup>+</sup>, cuya influencia ha sido ya reportada en estudios previos (Wagner *et al*, 2002; Moscardó *et al*, 2014; Sanz *et al*, 2020).

Dejando aparte para su posterior discusión la incidencia, las características clínicas y biológicas y la mortalidad asociada a la EICH, el resto de resultados del TPH como la recaída, la MSR, la SLE y la SG no mostraron diferencias significativas entre las cuatro cohortes. Esto sugiere que las indicaciones realizadas según la



disponibilidad o no de un DHI no han mermado significativamente las posibilidades curativas del TPH en nuestros pacientes y permiten un análisis relativamente bien balanceado de la EICH, principal objetivo de este estudio.

Que la mayor causa de mortalidad en nuestra serie sea la recaída de la enfermedad de base y que la mortalidad atribuible a la EICH sea la causa más frecuente de MSR son hallazgos esperables por ser comunes a prácticamente todos los estudios en la literatura. El interés de estudiar en detalle la EICH, no solo por representar la mayor causa de MSR, sino también por su morbilidad e impacto indirecto en otras causas de morbilidad y mortalidad es, por tanto, obvio y será objeto de discusión en los siguientes párrafos.

### 6.3. A propósito de la EICH aguda

En relación con la EICH aguda, ninguna de las características de los pacientes ni de los trasplantes, salvo la fuente de progenitores (sangre periférica comparado con SCU) mostró diferencias significativas entre los pacientes que desarrollaron esta complicación, cualquiera que fuese su grado y los que no tuvieron EICH aguda. Mientras solo un paciente de los 16 sometidos a TSCU no tuvo EICH aguda (6%), la proporción de pacientes que no desarrollaron esta complicación tras un TPH de sangre periférica fue significativamente superior (41%). Cuando además de la fuente de progenitores, se tuvo en cuenta el tipo de donante, las diferencias entre las cuatro cohortes del estudio mostraron diferencias significativas tanto en la incidencia acumulativa de EICH aguda grado I-IV y II-IV, siendo más altas en el TSCU y en haploidéntico comparados con el DNE y DHI. Sin embargo, estas diferencias perdieron su significación estadística cuando se analizó la incidencia acumulativa de EICH aguda grado III-IV. Estos hallazgos merecen ser comentados ante la creencia general de que el TSCU tiene una baja incidencia de EICH aguda, lo que es discutible. Es cierto que la incidencia de formas graves de EICH aguda en el TSCU es baja (12% en nuestra serie), especialmente teniendo en cuenta el grado de disparidad HLA entre donante y receptor, pero no así de formas leves o moderadas. Algo similar sucede con el TPH de donante haploidéntico, en el que la incidencia de EICH aguda es actualmente también relativamente baja para el grado de disparidad HLA entre donante y receptor, gracias al efecto de métodos de depleción T *in vivo*, particularmente en nuestra serie con el uso de CY-PT. No obstante, esta relativamente

baja incidencia de EICH aguda en el TPH haploidéntico fue siempre superior al de DNE y al de DHI, especialmente en el grado I-IV y II-IV.

A resaltar la importancia de la afectación cutánea en los pacientes que desarrollaron una EICH aguda, ya que fue de largo el órgano más frecuentemente involucrado (93%) y en el que se centró fundamentalmente el interés del presente estudio. Mientras en una proporción importante de estos pacientes (40%) la afectación cutánea fue la única manifestación de EICH aguda, la afectación aislada del tracto gastrointestinal y del hígado fue observada solo en una pequeña proporción (7% y 0%, respectivamente). Como está típicamente descrito, la EICH se presentó mayoritariamente en su forma clásica, pero una pequeña proporción (13%) tuvieron una EICH aguda tardía (6 casos recurrentes y 2 casos persistentes). Excepto un paciente que tuvo lesiones ampollosas y despegamiento cutáneo (grado 4), la mayoría presentaron exantemas leves o moderados (76%), mientras la cuarta parte restante exantemas más graves (grado 3).

#### 6.4. A propósito de la EICH crónica

En relación con la EICH crónica que, como es típicamente descrito en el TPH alogénico (Horwitz & Sullivan, 2005; Lee *et al*, 2003), fue la complicación tardía más frecuente también en nuestra serie. Teniendo en cuenta que la fuente de progenitores, excepto un paciente trasplantado con médula ósea fue la sangre periférica (85%) y la SCU (14%), la incidencia global acumulada a los 12 meses de EICH crónica de cualquier grado del 66% puede considerarse razonablemente dentro del rango esperado (Jagasia *et al*, 2015; Lee & Flowers, 2008). No obstante, la incidencia de EICH crónica descendió notablemente al considerar sólo las formas moderadas-graves (36%) y graves (10%). Aparte del desarrollo previo de una EICH aguda, que en nuestra serie ocurrió en el 70% de los pacientes con EICH crónica, ninguno de los demás factores de riesgo más consistentemente asociados al desarrollo de EICH crónica (Flowers *et al*; Kanda *et al*, 2014; Grube *et al*, 2016), como la edad de donante y del receptor, la disparidad de sexo y de HLA entre donante y receptor fue encontrado significativamente asociado a la incidencia de esta complicación en nuestro estudio. Los únicos factores que encontramos asociados con la incidencia de EICH crónica fueron el antecedente de un TPH previo y el tipo de TPH. La realización de un TPH previo, tanto autólogo como alogénico, se asoció con la EICH crónica de cualquier grado y con la moderada-grave. A nuestro conocimiento esto no está descrito en la literatura. Podríamos especular que los pacientes que han recibido un TPH previo son

pacientes con alto riesgo de recaída y en los que habría una tendencia a retirar más precozmente la inmunosupresión para favorecer el efecto injerto-contratumor, pero asumiendo mayor riesgo de EICH crónica. Respecto al tipo de TPH, esta fue la única variable significativamente asociada con la EICH crónica grave. Curiosamente, el TSCU sí ha sido asociado con una más baja incidencia de EICH crónica extensa (Kanda *et al*, 2014) comparado con el TPH de DHI de médula ósea, que es justo lo opuesto a lo encontrado en nuestro estudio, incluso cuando la comparación se hizo con todo tipo de donantes de sangre periférica. A este respecto, podemos especular sobre un progresivo incremento de la edad y una mayor proporción de pacientes con estados avanzados de la enfermedad que reciben un TSCU en nuestro centro, lo que haría emerger un problema subyacente que, en otros centros con una selección más favorable de pacientes, no permite su observación. No obstante, la posibilidad de profundizar en la investigación de este fenómeno ha quedado relegada por la drástica reducción del programa de TSCU iniciada tras la realización de un estudio prospectivo aleatorizado comparándolo con el TPH haploidéntico (Sanz *et al*, 2020).

La incidencia de las formas clínicas de inicio de la EICH crónica mostró una distribución mayoritaria de la forma quiescente (58%), es decir, que sobrevinieron tras una EICH aguda previamente resuelta, seguido de la forma *de novo* (30%) y la progresiva, lo que contrasta con algunas series. Así, la relativa baja incidencia de formas progresivas observada en nuestro estudio (12%) ha sido reportada incluso más baja por otros (hasta 5%) (Perez-Simon *et al*, 2008), pero también significativamente más alta (hasta 44%) (Arai *et al*, 2015; Curtis *et al*, 2017). La gran variabilidad reportada en las formas de inicio de la EICH crónica puede deberse a múltiples factores, pero está bastante bien establecida la diferente distribución observada entre los receptores de un TPH de DHI y los de DNE o con disparidad HLA (haploidéntico y SCU). Basándonos en datos del CIBMTR, los TPH de DHI tendrían EICH crónica *de novo* 35%, quiescente 30%-40% y progresiva 20%-30%, mientras que con los datos del National Marrow Donor Program en DNE, en los que la incidencia de EICH aguda es significativamente más alta, su distribución cambia drásticamente a 12% *de novo*, 69% quiescentes y 19% progresivas (Lee *et al*, 2003). La mayor incidencia de EICH aguda observada en los TPH alternativos al de DHI en nuestra serie, como DNE, pero especialmente haploidéntico y SCU, probablemente sea el factor que mejor explica la alta incidencia de formas quiescentes en nuestro estudio. Muy pocos estudios han evaluado la asociación de estas formas clínicas con los diferentes tipos de donantes/injertos, incluida la SCU. Hasta donde sabemos, solo el GVHD Working

Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation abordó este análisis en una serie muy amplia de 1716 pacientes que desarrollaron EICH crónica de 4818 pacientes trasplantados en Japón hasta diciembre de 2009 (Kanda *et al*, 2014). En este estudio, se reportaron presentaciones de EICH crónica *de novo*, quiescente y progresiva en 27%, 53% y 20%, respectivamente, subiendo la forma quiescente al 62% en el TSCU.

La alta proporción de pacientes en los que la EICH crónica afectó la mucosa oral (76%), siendo de lejos la localización más común, subraya la necesidad de monitorizar clínicamente la cavidad oral de manera sistemática y frecuente, especialmente teniendo en cuenta que el 42% y el 15% de los pacientes con lesiones orales tendrán una EICH crónica moderada y grave, respectivamente. Aunque en la cavidad oral pueden verse una variedad de lesiones e incluso una limitación de su apertura, las más características son las lesiones liquenoides y las úlceras. Tras la cavidad oral, la piel (43%), el tracto gastro-intestinal (41%), el hígado (37%), los ojos (20%), los pulmones (9%), el aparato genital (9%) y el aparato locomotor (4%) son los órganos también involucrados en la EICH crónica con diferente grado de participación en las formas moderada y grave de la EICH crónica. Así, la afectación pulmonar y el aparato locomotor, aunque poco frecuentes, estuvieron altamente asociadas a la EICH crónica grave (57% y 66%, respectivamente).

### **6.5. A propósito de los estudios histológicos en la EICH, aguda y crónica, y en las toxicodermias**

#### **6.5.1. Contribución al diagnóstico diferencial entre EICH aguda y toxicodermias**

Debido a la similitud clínica entre la EICH aguda cutánea y otras causas de exantema tras un TPH, sobre todo las toxicodermias, la comparación de sus rasgos histológicos es del mayor interés clínico de la presente tesis. En nuestro estudio, encontramos en la epidermis una mayor incidencia de atrofia, queratinocitos atípicos, y engrosamiento de la lámina basal, así como una menor incidencia de exocitosis de eosinófilos en la EICH aguda comparado con las toxicodermias. En la dermis, tanto papilar como reticular, y en el tejido celular subcutáneo, la EICH aguda presenta una menor incidencia de exocitosis de linfocitos y eosinófilos, así como menor incidencia de infiltración perivascular y en banda comparado con las toxicodermias. En cambio,

en el epitelio folicular y ecrino no se observaron diferencias significativas entre ambas entidades. Estos hallazgos contrastan con diversos estudios que encontraron la histología ineficaz para distinguir entre toxicodermias, infecciones virales y el exantema de la EICH (Drijkoningen *et al*, 1988; Kohler *et al*, 1997; Kuykendall & Smoller, 2003). Una posible explicación podría deberse a que la fisiopatología de la EICH y las toxicodermias está mediada por la misma célula, los linfocitos T, y presentan fenotipos superpuestos (Valks *et al*, 2001). En cambio, otros autores sí encuentran características histológicas diferenciales entre EICH aguda y otros exantemas tras un TPH (Massi *et al*, 1999; Lehman *et al*, 2014). Así, (Massi *et al*, 1999) encontraron que las biopsias de EICH aguda presentaban significativamente más atrofia epidérmica, como en nuestro estudio, espongiosis, satelitosis, y una vacuolización basal más difusa en el grupo sin EICH. Mientras que, a diferencia de nuestros datos, también observaron más infiltrado inflamatorio y exocitosis de linfocitos en la EICH. Sin embargo, (Lehman *et al*, 2014) reportaron una menor intensidad de espongiosis y densidad de eosinófilos dérmicos en el grupo de EICH comparado con las toxicodermias.

En relación con la presencia de eosinófilos, la diferencia significativa en el contenido de eosinófilos en la epidermis de los pacientes con EICH comparados con las toxicodermias encontrada en nuestro estudio está en línea con lo reportado por (Weaver & Bergfeld, 2010), quienes observaron que un número elevado de eosinófilos (una media de 16 eosinófilos por campo de 10 aumentos) era suficiente para descartar EICH con un 100% de especificidad. En nuestro estudio, ninguna de las biopsias de EICH, tanto aguda como crónica, presentaron eosinófilos en la epidermis, mientras que una proporción de las toxicodermias presentó un contenido leve o moderado de eosinófilos en la epidermis. Esta diferencia se observó también en la dermis papilar y reticular, aunque no en el tejido celular subcutáneo, ni en los epitelios anexiales (folicular y ecrino). La presencia de eosinófilos se asocia típicamente a las reacciones de hipersensibilidad por fármacos (Romagosa *et al*, 2001). Sin embargo, este hallazgo en el infiltrado inflamatorio como característica discriminatoria entre la EICH aguda y las toxicodermias es aún controvertido. De hecho, diversos estudios ponen en duda dicha asociación (Kohler *et al*, 1997; Massi *et al*, 1999; Valks *et al*, 2001; Marra *et al*, 2004) y alertan del riesgo de utilizar los eosinófilos para el diagnóstico diferencial de la EICH aguda y las TD, ya que los eosinófilos pueden ser prominentes en algunas biopsias de EICH y llevar a un diagnóstico equivocado, con el consiguiente tratamiento inadecuado y mal desenlace para los pacientes (Marra *et al*, 2004). Como hemos

comentado anteriormente, nuestros datos parecen apoyar que la presencia de eosinófilos en la dermis y epidermis es más característico de las toxicodermias que de la EICH.

A pesar de que se han propuesto criterios mínimos para el diagnóstico histológico de la EICH aguda (Lerner *et al*, 1974) y crónica (Shulman *et al*, 2015), estos no son específicos y su interpretación es observador-dependiente. Se ha demostrado que las biopsias cutáneas rara vez alteran la decisión terapéutica en pacientes trasplantados que desarrollan exantema cutáneo (Barksdale *et al*, 1998; Zhou *et al*, 2000). Basándose en estos datos, se ha sugerido que la práctica rutinaria y sistemática de biopsias en pacientes trasplantados, fuera del contexto de investigación, puede ser abandonada sin comprometer la seguridad del paciente (Zhou *et al*, 2000; Nghiem, 2001).

### **6.5.2. En relación a las características de la EICH aguda y la EICH crónica**

La comparación de las características histológicas de la EICH aguda y crónica tiene un interés clínico limitado debido a su distinta cronopatía y rasgos clínicos de presentación. No obstante, pudimos constatar algunas diferencias como una mayor proporción de acantosis e intensidad de vacuolización de la basal de la epidermis en la EICH crónica comparado con la EICH aguda. Además, todas las biopsias de EICH crónica tuvieron exocitosis de linfocitos en la epidermis comparado con el 68% de las biopsias de EICH aguda. En la EICH crónica, la esclerosis colágena en la dermis fue también más abundante, con una mayor proporción de casos con inflamación generalizada y más intenso infiltrado en banda, así como una mayor exocitosis de linfocitos en el epitelio ecrino. No obstante, la ausencia de otras diferencias debe interpretarse con cautela, ya que el número de biopsias estudiadas de pacientes con EICH crónica fue relativamente escaso ( $n = 15$ ) comparado con las de EICH aguda ( $n = 56$ ). En un estudio de consenso entre patólogos, manifestaron que la discriminación de las formas agudas y crónicas es un reto (Hillen *et al*, 2015) y que no es posible ni relevante distinguir histológicamente las formas de EICH aguda persistente, recurrente, o de aparición tardía, de la EICH crónica (Shulman *et al*, 2015). Aunque no se conocen rasgos histológicos predictivos de EICH crónica subsecuente a EICH aguda, en una serie pequeña de 10 pacientes con EICH aguda tardía, el 40% presentaba características histológicas concomitantes de EICH crónica liquenoide.

Estos pacientes tuvieron mayor riesgo de desarrollar EICH crónica completa (Bridge *et al*, 2007).

### **6.5.3. En relación al infiltrado inflamatorio en la EICH aguda, EICH crónica y toxicodermias**

Diversos estudios inmunohistoquímicos han caracterizado el fenotipo de las células mononucleares que infiltran la piel en la EICH (Acevedo *et al*, 1991; Diamond *et al*, 1995; Atkinson *et al*, 1986; Claudy *et al*, 1979; Nikaein *et al*, 1991; Volc-Platzter *et al*, 1988; Kaye *et al*, 1984; Dreno *et al*, 1986; Lampert *et al*, 1981, 1982; Norton & Sloane, 1994), mostrando que estas células son predominantemente linfocitos T, tanto CD8<sup>+</sup> como CD4<sup>+</sup>, como en nuestro estudio. Los primeros se consideran la principal célula efectora responsable de la EICH (Takata *et al*, 1993; Heldal *et al*, 2004). Los linfocitos T CD4<sup>+</sup>, junto con los macrófagos y otras células mononucleares, son responsables de la producción de diversas citoquinas que ejercen un papel fundamental en la patogénesis de la EICH (Nikaein *et al*, 1991; Norton & Sloane, 1994; Norton *et al*, 1992; Rowbottom *et al*, 1993; Abhyankar *et al*, 1993; Norton *et al*, 1991). A destacar el hallazgo en nuestro estudio de una mayor infiltración linfocitaria CD4<sup>+</sup> y TIA-1 en la EICH aguda y de CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> en la EICH crónica comparado con las toxicodermias.

Un estudio de inmunohistoquímica en 19 biopsias de EICH mostró en los casos de EICH aguda que las células predominantes en el infiltrado dérmico y de la epidermis profunda eran linfocitos T que expresaban CD3, CD5, CD45RO y HLA-DR (Favre *et al*, 1997). A mayor gravedad de la EICH, observaron más células CD3<sup>+</sup> en la dermis, donde las CD4<sup>+</sup> predominaban sobre los CD8<sup>+</sup>. En cambio, la mayoría de los linfocitos T intraepiteliales eran CD8<sup>+</sup> (Favre *et al*, 1997). En este estudio, solo se observaron linfocitos CD56<sup>+</sup> (NK) en un caso de EICH grado 2 y estaban localizados en la dermis papilar. Las células B fueron escasas en el infiltrado dérmico. En la evaluación de EICH crónica, encontraron un escaso infiltrado en la dermis, compuesto por linfocitos, macrófagos y melanófagos. Las células predominantes fueron CD3<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup>, y HLA-DR<sup>+</sup>. Entre ellas, las CD4<sup>+</sup> fueron más abundantes que las CD8<sup>+</sup>. No encontraron NK ni células B. (Favre *et al*, 1997). Más recientemente, se ha visto que muchas células del infiltrado inflamatorio dérmico en casos de EICH aguda no tratada eran en realidad macrófagos CD163<sup>+</sup> en lugar de linfocitos T. La presencia de abundantes macrófagos se ha correlacionado con corticorresistencia y menor



supervivencia (Nishiwaki *et al*, 2009), pero nosotros no pudimos confirmar este hallazgo.

Como era de esperar, la expresión de linfocitos B en nuestro estudio fue negativa en ambas formas de EICH y en las toxicodermias, ya que estas células no tienen papel protagonista en la patofisiología de estas entidades. Se cree que las células Tregs, que promueven la inmunotolerancia, están disminuidas en el contexto de la EICH (Beres *et al*, 2012; Beres & Drobyski, 2013), pero en nuestro estudio no encontramos diferencias en la proporción de linfocitos Tregs FoxP3 entre la EICH aguda, la EICH crónica y las toxicodermias.

El uso de la inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial de la EICH y toxicodermias es controvertido. Mientras algunos han encontrado poca utilidad (Shulman *et al*, 2015; Esteban & Somlo, 1995; Piérard *et al*, 2013), otros la consideran útil para distinguir la EICH de otras condiciones (Wegner *et al*, 2021). Estos últimos encontraron una correlación entre el número de células T detectadas y la gravedad histológica de la EICH, de forma que los grados 1-2 mostraron un aumento, mientras que los grados 2-3 y 3 contenían menos células T, lo que atribuyen al hecho de que las lesiones más graves tienen áreas de epidermis ausente. La presencia de células CD8<sup>+</sup> fue similar en los grupos SSJ/NET, exantema por fármacos y EICH, pero sólo en la EICH la proporción de células CD4<sup>+</sup> estaba significativamente aumentada. Además, en la EICH aguda encontraron aumento de células NK CD56<sup>+</sup> en la dermis superficial, lo que no se observó en el resto de los grupos de estudio. El mayor número de células NK se encontró en la EICH aguda grado 2. Estos autores concluyen que la EICH aguda podría tener un infiltrado inflamatorio distintivo que podría ayudar al diagnóstico diferencial (Wegner *et al*, 2021). En síntesis, el uso aislado de la inmunohistoquímica no es concluyente en el diagnóstico de EICH, pero puede servir como herramienta complementaria. El aumento de células T y NK en diferentes estudios sugiere un papel específico de estas células en la patogenia de la EICH.

#### **6.5.4. Grado histológico de la EICH según la gravedad clínica**

Solo un estudio previo sobre la utilidad de la biopsia en el manejo de pacientes con exantema sospechoso de EICH ha valorado la correlación entre la gravedad clínica e histológica (Zhou *et al*, 2000). En este estudio, en consonancia con nuestros resultados, se muestra que los hallazgos histológicos no se correlacionaron con la gravedad cutánea ni global de la EICH (Zhou *et al*, 2000). Los autores atribuyeron el



hallazgo a la tendencia a realizar biopsias según la gravedad del exantema, siendo más proclives a realizar biopsias en los casos moderados o severos (Zhou *et al*, 2000). En nuestro caso, realizamos biopsias cutáneas de los exantemas independientemente de la gravedad inicial, repitiéndola en casos con progresión clínica,

#### **6.5.5. Patrón de expresión de elafina en biopsias de EICH aguda, EICH crónica y toxicodermias**

En la Tabla 6.1 se resumen los rasgos de los escasos estudios disponibles, incluido el nuestro, sobre la expresión de elafina cutánea en la EICH, aguda y crónica, y en las toxicodermias.

A pesar de que en estos estudios encontraron sobreexpresión de la elafina en las biopsias cutáneas de EICH, los hallazgos respecto a su utilidad para discriminar entre EICH y otras causas de exantema fueron contradictorios. En el estudio de (Paczesny *et al*, 2010) se define la positividad para elafina como la tinción de al menos el 50% del grosor epidérmico, excluyendo la capa granulosa. En este estudio compararon 10 biopsias de pacientes con EICH cutánea con 10 biopsias de pacientes trasplantados que desarrollaron toxicodermias, encontrando que el 70% de las biopsias de EICH cutánea eran positivas para elafina, mientras que ninguno de los casos de toxicodermias fueron positivos. Al igual que el estudio anterior, (Mahabal *et al*, 2018) encontraron que todas las biopsias de EICH (n = 16) expresaban elafina epidérmica (con la misma definición que el estudio anteriormente comentado) mientras que ninguno de los 8 exantemas no atribuibles a EICH (toxicodermias = 4, exantema viral = 1, eccema = 2, dermatitis seborreica n = 1) fue positivo. Curiosamente, los 3 casos de exantemas por síndrome de injerto sí fueron positivos. A diferencia de los dos anteriores y del nuestro, en el estudio de (Brüggen *et al*, 2015) los pacientes con toxicodermias no eran pacientes trasplantados. En este estudio, los patrones de elafina en la EICH aguda y crónica liquenoide mostraron un aumento de la expresión mientras que no se detectó elafina o fue muy baja en la epidermis de la EICH crónica esclerótica (Brüggen *et al*, 2015). En nuestro caso, debido al escaso tamaño muestral, se analizaron todas las biopsias de EICH crónica en conjunto, sin distinguir entre EICH crónica liquenoide o esclerótica.

Tabla 6.1 Estudios que han evaluado la expresión de elafina tisular en la EICH y otras causas de exantema.

| Referencia                     | Pacientes con EICH                      | Patrón elafina en epidermis                                                                                                                                                                                                              | Pacientes no-EICH                                                                                                                                                               | Correlación con otras variables histológicas                                                                                                                                                 | Correlación con gravedad y pronóstico                                                                                                                 |
|--------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (Paczesny <i>et al</i> , 2010) | EICHa = 10                              | Positivo en 7/10 casos (>50% del grosor).                                                                                                                                                                                                | 10, TD en pacientes trasplantados (positivo en 0/10).                                                                                                                           | No valorado                                                                                                                                                                                  | No valorado                                                                                                                                           |
| (Brüggen <i>et al</i> , 2015)  | EICHa = 22<br>EICHcl = 15<br>EICHcs = 7 | Diferentes patrones, pero no distintivo de EICH vs TD.                                                                                                                                                                                   | 10, TD en pacientes no trasplantados. El % de queratinocitos positivos no fue diferente entre EICHa y TD.                                                                       | Aumento del grosor epidérmico, infiltrado inflamatorio más prominente.                                                                                                                       | No correlación con gravedad cutánea clínica, histológica ni global.<br>EICHa: peor SG a 2 años.<br>EICHcl: mayor proporción de corticorrefratariedad. |
| (Mahabal <i>et al</i> , 2018)  | EICH < 100 días<br>n = 16               | Positivo en todos los casos (>50% del grosor).                                                                                                                                                                                           | 11 exantema no EICH en pacientes trasplantados (TD = 4, exantema viral = 1, eccema = 2, dermatitis)<br>Positivo en 3/11, los 3 correspondientes a SI.<br>Ningún positivo en TD. | No valorado                                                                                                                                                                                  | No valorado                                                                                                                                           |
| <b>Presente estudio</b>        | EICHa = 56<br>EICHc= 15                 | Diversos patrones de expresión de elafina en epidermis y en capa granulosa.<br>Ninguna diferencia entre EICH aguda y TD, pero si entre EICH crónica y TD<br>Diferencias en la extensión, intensidad y patrón entre EICH aguda y crónica. | 20 TD<br>en todos los casos patrón homogéneo en la epidermis.                                                                                                                   | Expresión baja de elafina se asoció a hiperqueratosis, queratinocitos atípicos en epidermis y presencia de cuerpos apoptóticos por campo.<br>No asociación con subpoblaciones linfocitarias. | No asociación con grado de EICH cutánea aguda o crónica.<br><br>No asociación con MSR y SG.                                                           |

TD: toxicodermias; EICHa: enfermedad de injerto contra huésped aguda; EICHcl: enfermedad de injerto contra huésped crónica liquenoide; EICHcs: enfermedad de injerto contra huésped crónica esclerótica; SI: síndrome de injerto.

En nuestro estudio se evaluó la expresión de elafina en la epidermis y a nivel de la granulosa. Si bien se encontraron algunas diferencias significativas en el entre la EICH aguda y crónica, la expresión de elafina no permitió diferenciar entre EICH aguda y las toxicodermias. Cabe destacar que en todos los casos de toxicodermias el patrón en la epidermis fue homogéneo.

#### **6.5.6. Asociación de la intensidad de expresión de elafina con variables histológicas, el infiltrado inflamatorio y el pronóstico**

La asociación de la intensidad de la expresión de elafina con la presencia de queratinocitos atípicos en la EICH aguda y de hiperqueratosis en la EICH crónica encontradas en nuestro estudio no han sido previamente reportadas. A nuestro conocimiento, sólo el estudio de (Brüggen *et al*, 2015) analizó la asociación de la expresión de elafina epidérmica con otras variables histológicas, encontrando que el grosor epidérmico, así como la intensidad del infiltrado inflamatorio se correlacionaron con una expresión alta de elafina tanto en la EICH aguda como crónica, lo cual no se ha reproducido en nuestro estudio. Además, mediante inmunofluorescencia demostraron mayor expresión de elafina en áreas de infiltrado inflamatorio prominente en células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> y un aumento de células CD4<sup>+</sup> en la dermis de las biopsias de EICH aguda con alta expresión de elafina. Las células T reguladoras CD4<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> estaban prácticamente ausentes en todas las biopsias. En nuestro estudio, en cambio, no se encontró asociación alguna entre la expresión de elafina y el infiltrado inflamatorio.

En relación al pronóstico, la falta de asociación de la intensidad de expresión de la elafina cutánea con la MSR y la supervivencia observada en nuestro estudio contrasta en cierto modo con lo reportado por (Brüggen *et al*, 2015), que observaron un peor pronóstico en los pacientes con EICH aguda y crónica liquenoide con expresión alta de elafina cutánea.

La ausencia de asociación de la intensidad de la expresión de la elafina con otras variables histológicas en las toxicodermias tampoco ha sido referida en la literatura.

## 6.6. A propósito del valor de la elafina plasmática como biomarcador de EICH cutánea

Tras los estudios pioneros del grupo de la Universidad de Michigan (Paczesny 2009, Paczesny 2010), la búsqueda de biomarcadores que permitan anticipar el diagnóstico y el pronóstico de la EICH ha sido un objetivo que ha interesado en los últimos años a diversos grupos, incluyendo al nuestro. Entre los biomarcadores usados primariamente por el grupo de la Universidad de Michigan (IL-2R $\alpha$ , TNFR1, IL-8 y HGF) (Paczesny *et al*, 2009), seleccionaron la elafina plasmática como el biomarcador de EICH cutánea. Se trata de una proteína epitelial secretada por los queratinocitos en respuesta a IL-1 y TNF $\alpha$  y está prácticamente ausente en la epidermis humana normal, pero se encuentra también en varias enfermedades inflamatorias de la piel, incluida la psoriasis (Alkemade *et al*, 1995). Inmediatamente después, el grupo de la Universidad de Michigan decidió llevar a cabo un estudio prospectivo para analizar específicamente el valor de la elafina plasmática como biomarcador de la EICH cutánea y el pronóstico en pacientes sometidos a alo-TPH (Paczesny *et al*, 2010). Para ello, analizaron muestras de plasma de 492 pacientes trasplantados entre 2000 y 2008, que fueron clasificadas en cuatro grupos: 1) pacientes con EICH cutánea aislada (n = 159); 2) pacientes sin EICH (n = 223); 3) pacientes con EICH gastrointestinal aislada (n = 57); y 4) pacientes con exantema cutáneo no atribuible a EICH por criterios clínicos y/o histológicos (n = 53). No se incluyeron en el análisis los pacientes que presentaron EICH simultáneamente en más de un órgano diana para evitar factores de confusión. Los niveles de elafina fueron casi cuatro veces más elevados en los pacientes con EICH cutánea que en los pacientes con exantema “no EICH” (toxicodermias). Además, los niveles de elafina se correlacionaron con la gravedad de la EICH cutánea y global, y se observó una asociación con la MSR y la SG.

En el momento en que concebimos el proyecto de investigación para esta tesis doctoral, cuyo objetivo principal de estudio es la EICH, decidimos reproducir un estudio prospectivo confirmatorio del valor de la elafina plasmática reportado por el grupo de la Universidad de Michigan antes comentado (Paczesny *et al*, 2010). En aquel momento, ningún otro estudio había confirmado o rechazado el valor de la elafina plasmática como biomarcador en este contexto. Sin embargo, en el tiempo transcurrido desde entonces, además del presente estudio, unos pocos más han analizado el valor de la elafina plasmática en contextos diversos, con metodologías variadas, objetivos distintos y resultados en algunos aspectos contradictorios (Levine *et al*, 2015; Kanakry

*et al*, 2017; Metafuni *et al*, 2017; George *et al*, 2021; Zewde *et al*, 2021). En la Tabla 6.2 se muestran los datos más relevantes de estos estudios.

Tabla 6.2. Estudios que han evaluado la elafina plasmática como biomarcador de EICH y otros eventos del alo-TPH

| Estudio                 | Periodo   | Pacientes | Tipo TPH               | Muestras                                                                 | Objetivo                                                                                           | Conclusión                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------|-----------|-----------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Paczesny et al. 2010    | 2000-2008 | 492       | DHI/DNE                | Niveles de elafina al comienzo del exantema                              | Correlación con gravedad EICH aguda                                                                | Elafina significativamente más alta al inicio de EICH cutánea. Se correlacionó con grado máximo de EICH y con mayor MSR. Valor diagnóstico y pronóstico significativo como biomarcador de EICH cutánea.                                                    |
| Kanakry et al. 2017     | 2004-2009 | 100       | DHI/DNE/Haplo<br>CY-PT | 1, 2, 6 y 12 meses pos-TPH                                               | Correlación de 7 proteínas plasmática, incluyendo elafina, con resultados TPH                      | Altos niveles de elafina (y IL-6) se asociaron con MSR solo en haplo.                                                                                                                                                                                      |
| Metafuni et al. 2017    | 2010-2014 | 77        | DHI/DNE/Haplo          | Basal, +30, inicio y resolución EICH                                     | Correlación de REG3α, ST2, BAFF, CXCL9 y elafina con resultados pos-TPH                            | Elafina aumentó al inicio de EICH aguda y crónica, independiente del órgano afecto. Niveles más altos al inicio de EICH se asociaron con riesgo cuatro veces mayor de resistencia a los corticoides y tendencia a progresión al síndrome de superposición. |
| Solán et al. 2021       | 2009-2016 | 87 + 62   | Haplo<br>CY-PT         | Días +15 y +30                                                           | Correlación con complicaciones                                                                     | Sugieren que podría ser útil para la identificación precoz de alto riesgo de EICH aguda cutánea grave.                                                                                                                                                     |
| George et al. 2021      | 2013-2015 | 261       | DHI/DNE/Haplo          | Pre-TPH e inicio del exantema (dentro de las 24h)                        |                                                                                                    | Valor limitado como biomarcador de EICH aguda cutánea. No útil para distinguir de otras causas de exantema.                                                                                                                                                |
| Zewde et al. 2021       | 2014-2018 | 263 + 263 | DHI/DNE/Haplo          | Diversos puntos pos-TPH (no especificados)                               | Valorar elafina como biomarcador pronóstico de EICH aguda                                          | No diferencia en niveles de elafina entre las etapas clínicas de la EICH cutánea y no correlación con MSR a 6 meses ni con SG.                                                                                                                             |
| <b>Presente estudio</b> | 2015-2017 | 119       | DHI/DNE/Haplo/SCU      | Pre-TPH, inicio del exantema y días +7, +14, +21, +28, +100, +180 y +365 | Valorar elafina como biomarcador diagnóstico y pronóstico de EICH aguda y otros resultados del TPH | No correlación de niveles de elafina en el momento del exantema y MSR, SG ni en la recaída. Incremento significativo en el día +7, excepto en el TSCU.                                                                                                     |

DHI: donante hermano HLA-idéntico; DNE: donante no emparentado; Haplo: donante familiar haploidéntico; CY-PT: ciclofosfamida posttrasplante; SCU: sangre de cordón umbilical; REG3α: regenerating islet-derived 3-α; ST2: suppression of tumorigenicity 2; B-cell activating factor 2; CXCL9: C-X-C Motif Chemokine Ligand 9.

Como puede observarse en la Tabla 6.2, los estudios son difícilmente comparables, ya que muestran una gran variabilidad no solo en aspectos metodológicos, como el tamaño muestral, el tipo de trasplante, la profilaxis de la EICH, y el momento de la toma de muestras, sino también en los objetivos. Así, mientras el estudio de referencia de la Universidad de Michigan no incluyó TPH de donante haploidéntico (Paczesny *et al*, 2010), el resto de los estudios sí incluyeron esta variedad de TPH, mayoritariamente usando CY-PT, e incluso uno de ellos sólo analizó pacientes sometidos a esta modalidad de TPH y de profilaxis de la EICH (Solán *et al*, 2021). Esta variabilidad fue aún más acusada en los puntos elegidos para las muestras de valoración de los niveles de elafina plasmática. En un estudio las muestras se tomaron en los días +15 y +30 del TPH (Solán *et al*, 2021), en otro los meses 1, 2, 6 y 12 (Kanakry *et al*, 2017), en otros dos se tomaron muestras basales pre-TPH y al inicio del exantema (Levine *et al*, 2015; Kanakry *et al*, 2017; Metafuni *et al*, 2017; George *et al*, 2021; Zewde *et al*, 2021), con muestras adicionales el día +30 y tras la resolución del exantema en uno de ellos (Levine *et al*, 2015; Kanakry *et al*, 2017; Metafuni *et al*, 2017; George *et al*, 2021; Zewde *et al*, 2021). Cabe resaltar que en el estudio de la Universidad de Michigan solo se valoraron las muestras tomadas al inicio del exantema (Paczesny *et al*, 2010). Nuestro estudio fue, a este respecto, el más exhaustivo, ya que incluyó determinaciones basales, semanalmente las cuatro primeras semanas, trimestralmente durante un año y en el momento del exantema. Desafortunadamente el elegante estudio multicéntrico reportado recientemente (Zewde *et al*, 2021), que incluyó 528 pacientes del Mount Sinai Acute GVHD International Consortium (MAGIC) tratados con corticosteroides por EICH cutánea para determinar la utilidad de la elafina plasmática como biomarcador pronóstico, se dice literalmente que se tomaron muestras en diversos momentos pos-TPH, pero no se especifica la secuencia precisa. No obstante, los datos de este estudio indican que los niveles de elafina sérica al inicio del tratamiento con corticosteroides para la EICH aguda no predicen la MSR, la SG ni la respuesta al tratamiento. Resultados que coinciden con lo observado en nuestro estudio, en el que la valoración de los niveles de elafina plasmática en el momento del exantema (generalmente coincidente con el inicio del tratamiento con corticoides) tampoco mostraron impacto significativo en la MSR, SG ni en la recaída. Resultados que, a su vez, contradicen la asociación con la MSR reportada por otros (Paczesny *et al*, 2010; Kanakry *et al*, 2017). Esta enorme dispersión metodológica, junto a la diversidad de objetivos ha determinado que los resultados sean igualmente variados y controvertidos, dejando sin resolver definitivamente el papel de los niveles de elafina plasmática como biomarcador de

EICH u otros criterios de valoración (“end points”) en el alo-TPH. Los resultados de nuestro estudio tampoco han servido para determinar el papel de la elafina plasmática, por lo que su determinación quedaría aún en el marco investigacional de la búsqueda de biomarcadores en el TPH, pero no en la rutina de seguimiento clínico.

El incremento significativo de los niveles de elafina plasmática encontrado en nuestro estudio en el día +7, tanto en la serie global como en los diferentes tipos de trasplante, excepto en el TSCU, no ha sido reportado en la literatura, ya que ninguno de los estudios revisados incluye una toma de muestras tan precoz. Solo un estudio dirigido a analizar la asociación de biomarcadores de EICH aguda y de activación endotelial muestra niveles aumentados de elafina en el día +7 (Nomura *et al*, 2017). Podríamos especular que la elevación precoz de la elafina, así como de otros biomarcadores, podría deberse al daño del acondicionamiento en los tejidos, principalmente en los epitelios cutáneo y gastrointestinal y en las células endoteliales (He & Holtan, 2018), pero también por otras complicaciones del trasplante como infecciones, enfermedad veno-oclusiva y toxicidad pulmonar (Chen & Cutler, 2019). Por último, la propia EICH podría ya estar presente subclínicamente en el día +7, produciendo un aumento de biomarcadores plasmáticos, manifestándose los síntomas clínicos días o semanas después (Hartwell *et al*, 2017).

### **6.7. A propósito de la recuperación celular inmune postrasplante y su relación con la EICH.**

El análisis de las poblaciones y subtipos linfocitarios fue realizado en un mismo laboratorio, sin variaciones respecto a la metodología y los reactivos utilizados, lo que permitió una mayor homogeneidad de los resultados inmunofenotípicos. Desafortunadamente, la pauta establecida para la toma de muestras para el análisis de las poblaciones linfocitarias no se pudo llevar a cabo en todos los pacientes, en gran parte debido a la morbilidad inherente al procedimiento del TPH.

En el análisis global de los pacientes, todas las poblaciones linfocitarias estudiadas mostraron un incremento progresivo significativo al cabo de un año postrasplante excepto los linfocitos Tregs. Según lo descrito en la literatura, tras el trasplante, los monocitos son las primeras células en injertar, seguido de los granulocitos, plaquetas y células NK. Desde el momento del injerto (que usualmente ocurre entre el día 10 a 25 pos-TPH) la mayoría de subtipos de leucocitos se normaliza rápidamente. El número de linfocitos aumenta rápidamente durante el



primer mes pos-TPH y los recuentos de la mayoría de poblaciones (excepto para las células T CD4<sup>+</sup>) alcanzan valores normales en la mayoría de pacientes (Storek *et al*, 2008).

Según el tipo de trasplante, en nuestro estudio la recuperación de linfocitos T fue más rápida en el trasplante haploidéntico, seguido del de DHI, DNE y por último el TSCU. Lo mismo se observó para las poblaciones de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y T CD8<sup>+</sup>. Es conocido que la reconstitución inmune se produce más rápidamente en los trasplantes de sangre periférica comparado con los de médula ósea. Esto se debe en gran medida a que los injertos de sangre periférica contienen unas 10 veces más linfocitos T y B que los injertos de médula (Ottinger *et al*, 1996; Storek *et al*, 2001a). Por otro lado, estudios previos han mostrado que la recuperación de células T está enlentecida en los trasplantes de SCU (Thomson *et al*, 2000; Klein *et al*, 2001; Komanduri *et al*, 2007). Por el contrario, las células B y NK parecen recuperarse rápidamente tras el trasplante de SCU (Niehues *et al*, 2001).

En relación con las poblaciones linfocitarias y el desarrollo de EICH aguda, observamos que la reconstitución de los linfocitos B fue más rápida en los pacientes que no desarrollaron EICH aguda, lo que concuerda con estudios previos (Sarantopoulos *et al*, 2009; Storek *et al*, 2001b). También observamos que el momento en que se detectaron diferencias en más poblaciones linfocitarias entre los pacientes con y sin EICH aguda fue a los 180 días, con menor cantidad de linfocitos en el grupo de pacientes con EICH aguda. En cambio, en relación con el desarrollo de EICH crónica, no encontramos diferencias significativas con los pacientes que no desarrollaron esta complicación, lo que contrasta con algunos estudios previos (Bohmann *et al*, 2017; Storek *et al*, 1996; Storek *et al*, 2001b; (Storek *et al*, 2002). Así, Bohmann *et al* (2017) reportaron una elevación significativa de células T CD4<sup>+</sup> a los tres meses del TPH en pacientes con EICH crónica (sobre todo en la forma de presentación *de novo*), mientras que observaron una disminución de estas células en el tipo quiescente (Bohmann *et al*, 2017). En nuestro estudio, no se analizaron las poblaciones linfocitarias según el tipo de presentación de la EICH crónica debido al tamaño muestral. También Storek *et al* reportaron que la linfopoyesis de células T CD8<sup>+</sup> está influenciada principalmente por la EICH crónica y/o su tratamiento, siendo menor en los pacientes con EICH crónica extensa (Storek *et al*, 2002). Así mismo, la reconstitución de células B estaría enlentecida en los pacientes con EICH crónica (Storek *et al*, 1996), siendo esta y su tratamiento el principal factor influyente en la linfopoyesis B (Storek *et al*, 2001b).

Nuestra observación de un mayor recuento de linfocitos Tregs a los 180 días en los pacientes sin EICH aguda, así como una tendencia no significativa en el día 100, concuerda con estudios previos (Nguyen *et al*, 2008; Taylor *et al*, 2002; Edinger & Hoffmann, 2011). La relación entre Tregs y EICH crónica es controvertida, habiéndose reportado tanto aumentos como descensos de la población Tregs en pacientes con EICH crónica y ausencia de correlación entre el número de Tregs y la gravedad (Clark *et al*, 2004; Perz *et al*, 2012; Matsuoka *et al*, 2010; Zorn *et al*, 2005; Bohmann *et al*, 2017). Nuestro estudio no pudo demostrar diferencias en esta subpoblación de linfocitos de acuerdo al desarrollo o no de EICH crónica.

## **7.CONCLUSIONES**



Las conclusiones de este proyecto de Tesis Doctoral sobre el análisis de la EICH en pacientes adultos sometidos a alo-TPH son las siguientes:

1. Entre las causas de mortalidad en los pacientes sometidos a un alo-TPH, la EICH es la más frecuente (16%), después de la recaída (63%).
2. La incidencia acumulada de EICH aguda a los 100 días fue del 62%, siendo 43% y 8% en las de grado II-IV y III-IV, respectivamente.
3. La inmensa mayoría de pacientes con EICH aguda presentaron la forma clínica clásica (87%) y de grado I o II (32% y 55%, respectivamente), con una distribución por igual de grados III y IV (7% cada uno).
4. Con notable diferencia, la piel fue el órgano más frecuentemente involucrado (93%), seguido del tracto gastrointestinal y el hígado, siendo los grados de severidad cutánea 1 y 2 los más frecuentes (37% cada uno) y muy infrecuente el grado más extremo (un solo grado 4).
5. El único factor de riesgo de EICH aguda identificado fue el tipo de trasplante según el tipo de donante, siendo el TSCU y el TPH haploidéntico los de mayor riesgo de EICH aguda seguidos del DNE y DHI.
6. El desarrollo de una EICH aguda no tuvo un impacto significativo en la tasa de recaídas, pero sí lo tuvo en la MSR y en la SG, siendo particularmente notable en los grados III-IV.
7. En relación con la EICH crónica, la incidencia acumulada a los 12 meses fue del 66%, siendo 42% y 11% moderada-grave y grave, respectivamente.
8. La gran mayoría de EICH crónica fue precedida de una EICH aguda (70%), siendo la forma quiescente la más común (84%).
9. El sitio más frecuentemente involucrado en la EICH crónica fue la mucosa oral, seguido de la piel, el tracto gastrointestinal y el hígado.
10. Las lesiones liquenoides orales, seguido del exantema cutáneo y las úlceras orales fueron de lejos las lesiones más frecuentemente observadas.
11. El único factor de riesgo de EICH crónica identificado fue la realización de un trasplante previo, tanto autólogo como alogénico.
12. La EICH crónica tampoco tuvo un impacto significativo en la tasa de recaídas ni en la MSR, pero se asoció con una mayor SG.

13. En relación con las características histológicas, nuestros resultados no permiten diferenciar entre EICH aguda o crónica y toxicodermias.
14. Los cambios histológicos en la EICH crónica son más manifiestos que en la EICH aguda, con un infiltrado inflamatorio más generalizado, mayor intensidad de vacuolización de la capa basal y mayor proporción de acantosis.
15. Respecto al tipo de infiltrado inflamatorio, debemos destacar una mayor infiltración linfocitaria CD4<sup>+</sup> y TIA-1 en la EICH aguda y de CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> en la EICH crónica comparado con las toxicodermias.
16. La proporción de linfocitos Tregs en la EICH aguda, EICH crónica y toxicodermias fue similar, mientras que la presencia de eosinófilos en la dermis y epidermis es más característico de las toxicodermias. Los hallazgos histológicos no se correlacionaron con la gravedad cutánea ni global de la EICH.
17. El patrón de expresión de la elafina cutánea no mostró diferencias significativas entre la EICH aguda y las toxicodermias. En cambio, el patrón homogéneo en la epidermis observado en las toxicodermias fue significativamente diferente al patrón de la EICH crónica.
18. La expresión de elafina cutánea no mostró utilidad para predecir gravedad o pronóstico en términos de MSR y SG.
19. La monitorización de los niveles de elafina plasmática no permitió predecir el desarrollo de EICH aguda o crónica, ni se correlacionó con la gravedad cutánea, por lo que parece no ser útil como biomarcador para el diagnóstico o el pronóstico de EICH.
20. La recuperación inmune pos-TPH fue más rápida en el TPH haploidéntico y más lenta en el TSCU. La EICH aguda afectó principalmente a la reconstitución de los linfocitos B, mientras que no observamos repercusión en las poblaciones linfocitarias en los pacientes con EICH crónica.
21. Un aumento de linfocitos Treg a partir del día 100 parece ser un factor protector de EICH aguda.
22. Aunque la reciente implementación desde 2017 de una estrategia de prevención de la EICH basada en CY-PT ha resultado muy eficaz y ha supuesto una mejora significativa de las tasas de EICH, MSR y SG, la investigación orientada al diagnóstico precoz y mayor precisión en el pronóstico de la EICH, así como a una mayor eficacia en su prevención y tratamiento continúan siendo una prioridad.

## **8.BIBLIOGRAFÍA**





- Abhyankar, S., Gilliland, D.G. & Ferrara, J.L. (1993) Interleukin-1 is a critical effector molecule during cytokine dysregulation in graft versus host disease to minor histocompatibility antigens. *Transplantation*, 56, 1518–1523 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8279027>.
- Acevedo, A., Aramburu, J., Lopez, J., Fernandez-Herrera, J., Fernandez-Ranada, J.M. & Lopez-Botet, M. (1991) Identification of natural killer (NK) cells in lesions of human cutaneous graft-versus-host disease: expression of a novel NK-associated surface antigen (Kp43) in mononuclear infiltrates. *Journal of Investigative Dermatology*, 97, 659–666 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=1682391&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Adom, D., Rowan, C., Adeniyi, T., Yang, J. & Paczesny, S. (2020) Biomarkers for Allogeneic HCT Outcomes. *Frontiers in Immunology*, 11, 673 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.00673/full>.
- Ahmed, S.S., Wang, X.N., Norden, J., Pearce, K., El-Gezawy, E., Atarod, S., Hromadnikova, I., Collin, M., Holler, E. & Dickinson, A.M. (2016) Identification and validation of biomarkers associated with acute and chronic graft versus host disease. *Bone Marrow Transplantation*, 51, 890 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=27245090&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Alkemade, H.A.C., Jongh, G.J.D., Arnold, W.P., Kerkhof, P.C.M. van de & Schalkwijk, J. (1995) Levels of Skin-Derived Antileukoproteinase (SKALP)/Elafin in Serum Correlate with Disease Activity During Treatment of Severe Psoriasis with Cyclosporin A. *Journal of Investigative Dermatology*, 104, 189–193.
- Amarnath, S., Mangus, C.W., Wang, J.C.M., Wei, F., He, A., Kapoor, V., Foley, J.E., Massey, P.R., Felizardo, T.C., Riley, J.L., Levine, B.L., June, C.H., Medin, J.A. & Fowler, D.H. (2011) The PDL1-PD1 axis converts human TH1 cells into regulatory T cells. *Science Translational Medicine*, 3, 111ra120–111ra120 Available at: <http://stm.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/scitranslmed.3003130>.
- Amorin, B., Alegretti, A.P., Valim, V., Pezzi, A., Laureano, A.M., Silva, M.A.L. da, Wieck, A. & Silla, L. (2014) Mesenchymal stem cell therapy and acute graft-versus-host disease: a review. *Human Cell*, 27, 137–150 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=24903975&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Antin, J.H., Chen, A.R., Couriel, D.R., Ho, V.T., Nash, R.A. & Weisdorf, D. (2004) Novel approaches to the therapy of steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 10, 655–668 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879104003982>.
- Aragüés, I.H., Pérez, A.P. & Fernández, R.S. (2017) Dermatitis inflamatorias asociadas a radioterapia. 108, 209–220 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001731016303301>.
- Arai, S., Arora, M., Wang, T., Spellman, S.R., He, W., Couriel, D.R., Urbano-Ispizua, A., Cutler, C.S., Bacigalupo, A.A., Battiwalla, M., Flowers, M.E., Juckett, M.B., Lee, S.J., Loren, A.W., Klumpp, T.R., Prockup, S.E., Ringden, O.T.H., Savani, B.N.,

- Socié, G., Schultz, K.R., et al (2015) Increasing Incidence of Chronic Graft-versus-Host Disease in Allogeneic Transplantation: A Report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 21, 266–274 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879114006600>.
- Arai, S., Jagasia, M., Storer, B., Chai, X., Pidala, J., Cutler, C., Arora, M., Weisdorf, D.J., Flowers, M.E.D., Martin, P.J., Palmer, J., Jacobsohn, D., Pavletic, S.Z., Vogelsang, G.B. & Lee, S.J. (2011) Global and organ-specific chronic graft-versus-host disease severity according to the 2005 NIH Consensus Criteria. *Blood*, 118, 4242–4249 Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/118/15/4242/29047/Global-and-organspecific-chronic-graftversushost>.
- Arora, M., Klein, J.P., Weisdorf, D.J., Hassebroek, A., Flowers, M.E.D., Cutler, C.S., Urbano-Ispizua, A., Antin, J.H., Bolwell, B.J., Boyiadzis, M., Cahn, J.-Y., Cairo, M.S., Isola, L., Jacobsohn, D.A., Jagasia, M., Klumpp, T.R., Lee, S.J., Petersdorf, E.W., Santarone, S., Gale, R.P., et al (2011) Chronic GVHD risk score: a Center for International Blood and Marrow Transplant Research analysis. *Blood*, 117, 6714–6720 Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/117/24/6714/22287/Chronic-GVHD-risk-score-a-Center-for-International>.
- Aslanian, H., Chander, B., Robert, M., Cooper, D., Proctor, D., Seropian, S. & Jain, D. (2012) Prospective Evaluation of Acute Graft-Versus-Host Disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 57, 720–725 Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10620-011-1938-x>.
- Atkinson, K., Munro, V., Vasak, E. & Biggs, J. (1986) Mononuclear cell subpopulations in the skin defined by monoclonal antibodies after HLA-identical sibling marrow transplantation. *British Journal of Dermatology*, 114, 145–160.
- Bacigalupo, A. (2007) Management of acute graft-versus-host disease. *British Journal of Haematology*, 137, 87–98 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2141.2007.06533.x>.
- Bacigalupo, A., Angelucci, E., Raiola, A.M., Varaldo, R., Grazia, C., Gualandi, F., Benedetti, E., Risitano, A., Musso, M., Zallio, F., Ciceri, F., Chiusolo, P., Sica, S., Rambaldi, A., Bonifazi, F., Parma, M., Martino, M., Onida, F., Iori, A.P., Selleri, C., et al (2020) Treatment of steroid resistant acute graft versus host disease with an anti-CD26 monoclonal antibodyâ€”Begelomab. *Bone Marrow Transplantation*, 1–8 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41409-020-0855-z>.
- Barksdale, S.K., Oberlender, S.A. & Barnhill, R.L. (1998) “Rush” skin biopsy specimens in a tertiary medical center: Diagnostic yield and clinical utility. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 38, 548–554.
- Battaglia, M., Stabilini, A. & Roncarolo, M.-G. (2005) Rapamycin selectively expands CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells. *Blood*, 105, 4743–4748 Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/105/12/4743/19720/Rapamycin-selectively-expands-CD4CD25FoxP3>.

- Bauer, D.J., Hood, A.F. & Horn, T.D. (1993) Histologic comparison of autologous graft-vs-host reaction and cutaneous eruption of lymphocyte recovery. *Archives of Dermatology*, 129, 855–858 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=8323305&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Beatty, P.G., Hansen, J.A., Longton, G.M., Thomas, E.D., Sanders, J.E., Martin, P.J., Bearman, S.I., Anasetti, C., Petersdorf, E.W. & Mickelson, E.M. (1991) Marrow transplantation from HLA-matched unrelated donors for treatment of hematologic malignancies. *Transplantation*, 51, 443–447 Available at: <http://journals.lww.com/00007890-199102000-00034>.
- Beres, A.J. & Drobyski, W.R. (2013) The role of regulatory T cells in the biology of graft versus host disease. *Front Immunol.* 2013; 4: 163. Available at: [http://scholar.google.com/javascript:void\(0\)](http://scholar.google.com/javascript:void(0)).
- Beres, A.J., Haribhai, D., Chadwick, A.C., Gonyo, P.J., Williams, C.B. & Drobyski, W.R. (2012) CD8 +Foxp3 +Regulatory T Cells Are Induced during Graft-versus-Host Disease and Mitigate Disease Severity. 189, 464–474 Available at: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.1200886>.
- Bittar, P.G., Casady, M., Selim, M.A. & Prose, N.S. (2018) Chemotherapy-induced eccrine squamous syringometaplasia in an infant. *Pediatric dermatology*, 35, e84–e85 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=29231256&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Bohmann, E.-M., Fehn, U., Holler, B., Weber, D., Holler, E., Herr, W., Hoffmann, P., Edinger, M. & Wolff, D. (2017) Altered immune reconstitution of B and T cells precedes the onset of clinical symptoms of chronic graft-versus-host disease and is influenced by the type of onset. *Annals of Hematology*, 96, 299–310.
- Bolaños-Meade, J., Jacobsohn, D.A., Margolis, J., Ogden, A., Wientjes, M.G., Byrd, J.C., Lucas, D.M., Anders, V., Phelps, M., Grever, M.R. & Vogelsang, G.B. (2005) Pentostatin in Steroid-Refractory Acute Graft-Versus-Host Disease. *Journal of Clinical Oncology*, 23, 2661–2668 Available at: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2005.06.130>.
- Bredeson, C., Rumble, R.B., Varela, N.P., Kuruvilla, J., Kouroukis, C.T. & Committee, S.C.T.S. (2014) Extracorporeal photopheresis in the management of graft-versus-host disease. *Current Oncology*, 21, 310–16 Available at: <http://www.current-oncology.com/index.php/oncology/article/view/1882>.
- Bridge, A.T., Nelson, R.P., Schwartz, J.E., Mirowski, G.W. & Billings, S.D. (2007) Histological Evaluation of Acute Mucocutaneous Graft-Versus-Host Disease in Nonmyeloablative Hematologic Stem Cell Transplants with an Observation Predicting an Increased Risk of Progression to Chronic Graft-Versus-Host Disease. *The American Journal of Dermatopathology*, 29, 1–6.
- Brownback, K.R., Thomas, L.A., McGuirk, J.P., Ganguly, S., Streiler, C. & Abhyankar, S. (2017) Effect of Rituximab on Pulmonary Function in Bronchiolitis Obliterans Syndrome due to Graft-Versus-Host-Disease. *Lung*, 195, 781–788 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00408-017-0051-0>.

- Brüggen, M.-C., Petzelbauer, P., Greinix, H., Contassot, E., Jankovic, D., French, L., Socié, G., Rabitsch, W., Kuzmina, Z., Kalhs, P., Knobler, R., Stingl, G. & Stary, G. (2015) Epidermal Elafin Expression Is an Indicator of Poor Prognosis in Cutaneous Graft-versus-Host Disease. *Journal of Investigative Dermatology*, 135, 999–1006 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2014.489>.
- Buzzeo, M.P., Yang, J., Casella, G. & Reddy, V. (2007) Hematopoietic stem cell mobilization with G-CSF induces innate inflammation yet suppresses adaptive immune gene expression as revealed by microarray analysis. *Experimental hematology*, 35, 1456–1465 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301472X07003529>.
- Byun, H.J., Yang, J.I., Kim, B.K. & Cho, K.H. (2011) Clinical differentiation of acute cutaneous graft-versus-host disease from drug hypersensitivity reactions. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 65, 726–732 Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962210008832>.
- Cahn, J.-Y., Klein, J.P., Lee, S.J., Milpied, N., Blaise, D., Antin, J.H., Leblond, V., Ifrah, N., Jouet, J.-P., Loberiza, F., Ringden, O., Barrett, A.J., Horowitz, M.M. & Socié, G. (2005) Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Societe Francaise de Greffe de Moelle et Therapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood*, 106, 1495–1500 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=15878974&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Canaday, D.H., Chakravarti, S., Srivastava, T., Tisch, D.J., Cheruvu, V.K., Smialek, J., Harding, C.V. & Ramachandra, L. (2006) Class II MHC antigen presentation defect in neonatal monocytes is not correlated with decreased MHC-II expression. *Cellular Immunology*, 243, 96–106 Available at: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=33947248550&origin=inward>.
- Carrascosa, R., Concha, M., Sánchez-Pérez, J., Aragües, M. & Fraga, J. (2014) Coexistence of Eccrine Squamous Syringometaplasia and Graft-Versus-Host Disease in a Patient with Secondary Myelodysplastic Syndrome. *Acta Dermato Venereologica*, 94, 599–600 Available at: <http://www.medicaljournals.se/acta/content/?doi=10.2340/00015555-1787>.
- Carreras, E., Rovira, M., Zeberio, I. & Valcárcel, D. (2016) Manual de trasplante hematopoyético 5ª edición. Amgen.
- Champlin, R.E., Schmitz, N., Horowitz, M.M., Chapuis, B., Chopra, R., Cornelissen, J.J., Gale, R.P., Goldman, J.M., Loberiza, F.R.J., Hertenstein, B., Klein, J.P., Montserrat, E., Zhang, M.J., Ringden, O., Tomany, S.C., Rowlings, P.A., Hoef, M.E.V. & Gratwohl, A. (2000) Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood*, 95, 3702–3709 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=10845900&retmode=ref&cmd=prlinks>.

- Chao, N.J. (2016) Pharmacologic Prevention of Acute Graft-versus-Host Disease. Antin JH, Appelbaum FR, Forman SJ, Negrin RS (Ed.). Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation (5th ed., p990-1003). Blackwell publishers. *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation* Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/9781118416426>.
- Chao, S.C., Tsao, C.J., Liu, C.L. & Lee, J.Y. (1998) Acute cutaneous graft-versus-host disease with ichthyosiform features. *British Journal of Dermatology*, 139, 553–555 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2133.1998.02438.x>.
- Chen, B.-A., Zhang, H., Chen, R., Cheng, J. & Jin, N. (2015) Systematic review and meta-analysis of prospective studies for ECP treatment in patients with steroid-refractory acute GVHD. *Patient Preference and Adherence*, 105–7 Available at: <http://www.dovepress.com/systematic-review-and-meta-analysis-of-prospective-studies-for-ecp-tre-peer-reviewed-article-PPA>.
- Chen, W., Chatta, G.S., Rubin, W.D., Clark, J.G., Hackman, R.C., Madtes, D.K., Ligitt, D.H., Kusunoki, Y., Martin, P.J. & Cheever, M.A. (1998) T cells specific for a polymorphic segment of CD45 induce graft-versus-host disease with predominant pulmonary vasculitis. *Journal of Immunology*, 161, 909–918 Available at: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=0032528413&origin=inward>.
- Chen, Y.-B. & Cutler, C.S. (2019) Biomarkers for acute GVHD: Can We Predict the Unpredictable? *Bone Marrow Transplantation*, 1–6 Available at: <https://www.nature.com/articles/bmt2012143>.
- Chen, Y.-B., Kim, H.T., McDonough, S., Odze, R.D., Yao, X., Lazo-Kallanian, S., Spitzer, T.R., Soiffer, R., Antin, J.H. & Ritz, J. (2009) Up-Regulation of  $\alpha 4\beta 7$  integrin on peripheral T cell subsets correlates with the development of acute intestinal graft-versus-host disease following allogeneic stem cell transplantation. *YBMT*, 15, 1066–1076 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=19660719&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Chen, Y.-B., McDonough, S., Chen, H., Kennedy, J., Illiano, C., Attar, E.C., Ballen, K.K., Dey, B.R., McAfee, S.L., Jagasia, M., Soiffer, R., Spitzer, T.R. & Ritz, J. (2013) Expression of  $\alpha 4\beta 7$  integrin on memory CD8(+) T cells at the presentation of acute intestinal GVHD. *Bone Marrow Transplantation*, 48, 598–603 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=23042495&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Chen, Y.-B., McDonough, S., Hasserjian, R., Chen, H., Coughlin, E., Illiano, C., Park, I.S., Jagasia, M., Spitzer, T.R., Cutler, C.S., Soiffer, R.J. & Ritz, J. (2012) Expression of CD30 in patients with acute graft-versus-host disease. *Blood*, 120, 691–696 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=22661699&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Cho, B.-S., Min, C.-K., Eom, K.-S., Kim, Y.-J., Kim, H.-J., Lee, S., Cho, S.-G., Kim, D.-W., Lee, J.-W., Min, W.-S. & Kim, C.-C. (2008) Feasibility of NIH consensus criteria for chronic graft-versus-host disease. *Leukemia*, 23, 78–84 Available at: <http://www.nature.com/articles/leu2008276>.



- Cho, Y.-T. & Chu, C.-Y. (2017) Treatments for Severe Cutaneous Adverse Reactions. *Journal of immunology research*, 2017, 1–9 Available at: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2017/1503709/>.
- Clark, F.J., Gregg, R., Piper, K., Dunnion, D., Freeman, L., Griffiths, M., Begum, G., Mahendra, P., Craddock, C., Moss, P. & Chakraverty, R. (2004) Chronic graft-versus-host disease is associated with increased numbers of peripheral blood CD4+CD25high regulatory T cells. *Blood*, 103, 2410–2416.
- Clark, J., Yao, L., Pavletic, S.Z., Krumlauf, M., Mitchell, S., Turner, M.L. & Cowen, E.W. (2009) Magnetic resonance imaging in sclerotic-type chronic graft-vs-host disease. *Archives of Dermatology*, 145, 918–922 Available at: <http://archderm.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archdermatol.2009.78>.
- Claudy, A.L., Schmitt, D. & Freycon, F. (1979) Graft-vs-host reaction in skin: histological immunological and ultrastructural studies. *Acta Derm Venereol*, 59, 7–13 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/84472>.
- Copelan, E.A. (2006) Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *New England Journal of Medicine*, 354, 1813–1826 Available at: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra052638>.
- Couriel, D.R. (2008) Ancillary and supportive care in chronic graft-versus-host disease. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 21, 291–307 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521692608000261>.
- Couriel, D.R., Saliba, R., Lima, M. de, Giralt, S., Andersson, B., Khouri, I., Hosing, C., Ippoliti, C., Shpall, E.J., Champlin, R. & Alousi, A. (2009) A phase III study of infliximab and corticosteroids for the initial treatment of acute graft-versus-host disease. *Biology of blood and marrow transplantation*, 15, 1555–1562 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=19896079&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Cox, D. & 1972 (1972) Regression models and life-tables (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society*, 34, 187–220 Available at: [http://scholar.google.com/javascript:void\(0\)](http://scholar.google.com/javascript:void(0)).
- Crossland, R.E., Norden, J., Juric, M.K., Green, K., Pearce, K.F., Lendrem, C., Greinix, H.T. & Dickinson, A.M. (2017) Expression of Serum microRNAs is Altered During Acute Graft-versus-Host Disease. 8, 786–14 Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.00308/full>.
- Curtis, L.M., Pirs, F., Steinberg, S.M., Mitchell, S.A., Baird, K., Cowen, E.W., Mays, J., Buxbaum, N.P., Pichard, D.C., Im, A., Avila, D., Taylor, T., Fowler, D.H., Gress, R.E. & Pavletic, S.Z. (2017) Predictors for Permanent Discontinuation of Systemic Immunosuppression in Severely Affected Chronic Graft-Versus-Host Disease Patients. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 23, 1980–1988 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879117306274>.
- Curtis, R.E., Travis, L.B., Rowlings, P.A., Socie, G., Kingma, D.W., Banks, P.M., Jaffe, E.S., Sale, G.E., Horowitz, M.M., Witherspoon, R.P., Shriner, D.A., Weisdorf, D.J., Kolb, H.J., Sullivan, K.M., Sobocinski, K.A., Gale, R.P., Hoover, R.N., Fraumeni, J.F. & Deeg, H.J. (1999) Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow

- transplantation: a multi-institutional study. *Blood*, 94, 2208–2216 Available at: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=0033214901&origin=inward>.
- Danylesko, I. & Shimoni, A. (2018) Second Malignancies after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Current treatment options in oncology*, 19, 9–17 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11864-018-0528-y>.
- Deeg, H.J. (2007) How I treat refractory acute GVHD. *Blood*, 109, 4119–4126 Available at: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2006-12-041889>.
- Dhir, S., Slatter, M. & Skinner, R. (2014) Recent advances in the management of graft-versus-host disease. *Archives of disease in childhood*, 99, 1150–1157 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=25016613&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Diamond, D.J., Chang, K.L., Jenkins, K.A. & Forman, S.J. (1995) Immunohistochemical analysis of T cell phenotypes in patients with graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation*, 59, 1436–1444 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7770932>.
- Dignan, F.L., Amrolia, P., Clark, A., Cornish, J., Jackson, G., Mahendra, P., Scarisbrick, J.J., Taylor, P.C., Shaw, B.E., Potter, M.N. & Transplantation, on behalf of the H.T.F. of the B.C. for S. in H. and the B.S. for B. and M. (2012a) Diagnosis and management of chronic graft-versus-host disease. 158, 46–61 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2141.2012.09128.x>.
- Dignan, F.L., Clark, A., Amrolia, P., Cornish, J., Jackson, G., Mahendra, P., Scarisbrick, J.J., Taylor, P.C., Hadzic, N., Shaw, B.E., Potter, M.N. & Transplantation, on behalf of the H.T.F. of the B.C. for S. in H. and the B.S. for B. and M. (2012b) Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease. *British Journal of Haematology*, 158, 30–45 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2141.2012.09129.x>.
- Dignan, F.L., Scarisbrick, J.J., Cornish, J., Clark, A., Amrolia, P., Jackson, G., Mahendra, P., Taylor, P.C., Shah, P., Lightman, S., Fortune, F., Kibbler, C., Andreyev, J., Albanese, A., Hadzic, N., Potter, M.N., Shaw, B.E. & Transplantation, on behalf of the H.T.F. of the B.C. for S. in H. and the B.S. for B. and M. (2012c) Organ-specific management and supportive care in chronic graft-versus-host disease. 158, 62–78 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2141.2012.09131.x>.
- Dreno, B., Milpied, N., Harousseau, J.L., Stalder, J.F., Bureau, B., Milpied, B. & Barriere, H. (1986) Cutaneous immunological studies in diagnosis of acute graft-versus-host disease. *British Journal of Dermatology*, 114, 7–15.
- Drijckoningen, M., Wolf-Peeters, C.D., Tricot, G., Degreef, H. & Desmet, V. (1988) Drug-induced skin reactions and acute cutaneous graft-versus-host reaction: a comparative immunohistochemical study. *Blut*, 56, 69–73 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/BF00633465>.
- Du, J., Flynn, R., Paz, K., Ren, H.-G., Ogata, Y., Zhang, Q., Gafken, P.R., Storer, B.E., Roy, N.H., Burkhardt, J.K., Mathews, W., Tolar, J., Lee, S.J., Blazar, B.R. &

- Paczesny, S. (2018) Murine chronic graft-versus-host disease proteome profiling discovers CCL15 as a novel biomarker in patients. *Blood*, 131, 1743–1754 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=29348127&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- E., J.W., John, Ballen, K.K., Zhang, M.-J., Allbee-Johnson, M., Karanes, C., Milano, F., Verneris, M.R., Eapen, M. & Brunstein, C.G. (2021) Comparison of haploidentical and umbilical cord blood transplantation after myeloablative conditioning. 5, 4064–4072 Available at: <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021004462>.
- Edinger, M. & Hoffmann, P. (2011) Regulatory T cells in stem cell transplantation: strategies and first clinical experiences. *Current opinion in immunology*, 23, 679–684 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=21802270&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Ehrhardt, M.J., Brazauskas, R., He, W., Rizzo, J.D. & Shaw, B.E. (2015) Survival of patients who develop solid tumors following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 51, 83–88 Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/bmt.2015.203>.
- Esteban, J.M. & Somlo, G. (1995) Skin biopsy in allogeneic and autologous bone marrow transplant patients: a histologic and immunohistochemical study and review of the literature. *Mod Pathol*, 8, 59–64 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7731943>.
- Favre, A., Cerri, A., Bacigalupo, A., Lanino, E., Berti, E. & Grossi, C.E. (1997) Immunohistochemical Study of Skin Lesions in Acute and Chronic Graft Versus Host Disease Following Bone Marrow Transplantation. *The American Journal of Surgical Pathology*, 21, 23–34.
- Fernández-Ponce, C., Hernández-Martínez, J. & Silvera-Redondo, C. (2006) CTLA-4, una molécula que inhibe la activación de los linfocitos T. *Salud Uninorte*, 22, 167–181 Available at: <https://www.redalyc.org/pdf/817/81722210.pdf>.
- Ferrara, J.L.M., Cooke, K.R. & Teshima, T. (2003) The Pathophysiology of Acute Graft-versus-Host Disease. *International journal of hematology*, 78, 181–187 Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02983793>.
- Ferrara, J.L.M., Harris, A.C., Greenson, J.K., Braun, T.M., Holler, E., Teshima, T., Levine, J.E., Choi, S.W.J., Huber, E., Landfried, K., Akashi, K., Lugt, M.V., Reddy, P., Chin, A., Zhang, Q., Hanash, S. & Paczesny, S. (2011) Regenerating islet-derived 3-alpha is a biomarker of gastrointestinal graft-versus-host disease. *Blood*, 118, 6702–6708 Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/118/25/6702/29281/Regenerating-isletderived-3alpha-is-a-biomarker-of>.
- Filipovich, A.H., Weisdorf, D., Pavletic, S., Socie, G., Wingard, J.R., Lee, S.J., Martin, P., Chien, J., Przepiorka, D., Couriel, D., Cowen, E.W., Dinndorf, P., Farrell, A., Hartzman, R., Henslee-Downey, J., Jacobsohn, D., McDonald, G., Mittleman, B., Rizzo, J.D., Robinson, M., et al (2005) National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host



- Disease: I. Diagnosis and Staging Working Group Report. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 11, 945–956.
- Fine, J.P., association, R.G.J. of the A. statistical & 1999 (1999) A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *Taylor & Francis*, 94, 496–509 Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1999.10474144>.
- Fischer, A., Jakubowski, A.A., Lacouture, M.E., Hollmann, T.J., Drucker, A.M., Maloy, M., Prockop, S., Querfeld, C., Busam, K.J. & Pulitzer, M.P. (2015) Histopathologic Features of Cutaneous Acute Graft-Versus-Host Disease in T-Cell–Depleted Peripheral Blood Stem Cell Transplant Recipients. *The American Journal of Dermatopathology*, 37, 523–529 Available at: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00000372-201507000-00003>.
- Flowers, M.E.D., Inamoto, Y., Carpenter, P.A., Lee, S.J., Kiem, H.P., Petersdorf, E.W., Pereira, S.E., Nash, R.A., Mielcarek, M., Fero, M.L., Warren, E.H., Sanders, J.E., Storb, R.F., Appelbaum, F.R., Storer, B.E. & Martin, P.J. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria.
- Foley, R., Couban, S., Walker, I., Greene, K., Chen, C.S., Messner, H. & Gauldie, J. (1998) Monitoring soluble interleukin-2 receptor levels in related and unrelated donor allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 21, 769–773 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=9603399&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Forcade, E., Kim, H.T., Cutler, C., Wang, K., Alho, A.C., Nikiforow, S., Ho, V.T., Koreth, J., Armand, P., Alyea, E.P., Blazar, B.R., Soiffer, R.J., Antin, J.H. & Ritz, J. (2016) Circulating T follicular helper cells with increased function during chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 127, 2489–2497 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=26944544&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Forcade, E., Paz, K., Flynn, R., Griesenauer, B., Amet, T., Li, W., Liu, L., Bakoyannis, G., Jiang, D., Chu, H.W., Lobera, M., Yang, J., Wilkes, D.S., Du, J., Gartlan, K., Hill, G.R., MacDonald, K.P., Espada, E.L., Blanco, P., Serody, J.S., et al (2017) An activated Th17-prone T cell subset involved in chronic graft-versus-host disease sensitive to pharmacological inhibition. *JCI Insight*, 2, e92111 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5470889>.
- Friedman, K.J., LeBoit, P.E. & Farmer, E.R. (1988) Acute Follicular Graft-vs-Host Reaction: A Distinct Clinicopathologic Presentation. *Archives of Dermatology*, 124, 688–691 Available at: <https://doi.org/10.1001/archderm.1988.01670050032014>.
- Fujii, H., Cuvelier, G., She, K., Aslanian, S., Shimizu, H., Kariminia, A., Krailo, M., Chen, Z., McMaster, R., Bergman, A., Goldman, F., Grupp, S.A., Wall, D.A., Gilman, A.L. & Schultz, K.R. (2008) Biomarkers in newly diagnosed pediatric-extensive chronic graft-versus-host disease: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*, 111, 3276–3285 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=17925486&retmode=ref&cmd=prlinks>.

- García-Diez, A., Aragües, M., Fraga, J. & Vazquez, L. (1987) Acantosis nigricans y reacción injerto contra huésped aguda. *Actas Dermosifiliogr*, 78, 13–14 Available at: <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=7759950>.
- George, L., Mahabal, G., Mohanan, E., Balasubramanian, P., Peter, D., Pulimood, S., Lakshmi, K., Jeyaseelan, L., Abraham, A., Srivastava, A., Mathews, V. & George, B. (2021) Limited utility of plasma elafin as a biomarker for skin graft-versus-host disease following allogeneic stem cell transplantation. *Clinical and Experimental Dermatology*, 46, 1482–1487.
- Giannotti, F., Labopin, M., Shouval, R., Sanz, J., Arcese, W., Angelucci, E., Sierra, J., Santasusana, J.-M.R., Santarone, S., Benedetto, B., Rambaldi, A., Saccardi, R., Blaise, D., Carella, M.A., Rocha, V., Baron, F., Mohty, M., Ruggeri, A. & Nagler, A. (2018) Haploidentical transplantation is associated with better overall survival when compared to single cord blood transplantation: an EBMT-Eurocord study of acute leukemia patients conditioned with thiopeta, busulfan, and fludarabine. *J Hematol Oncol*, 11, 110 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117895>.
- Glucksberg, H., Storb, R., Fefer, A., Buckner, C.D., Neiman, P.E., Clift, R.A., Click, J.W., Lerner, K.G. & Thomas, E.D. (1974) Clinical Manifestations of Graft-versus-Host Disease in Human Recipients of Marrow from HL-A-Matched sibling donors. *Transplantation*, 18, 295–304 Available at: [https://journals.lww.com/transplantjournal/abstract/1974/10000/clinical\\_manifestations\\_of\\_graft\\_versus\\_host.1.aspx](https://journals.lww.com/transplantjournal/abstract/1974/10000/clinical_manifestations_of_graft_versus_host.1.aspx).
- Goker, H., Haznedaroglu, I.C. & Chao, N.J. (2001) Acute graft-vs-host disease: pathobiology and management. *Experimental hematology*, 29, 259–277 Available at: <http://pubmed.gov/11274753>.
- Gooley, T.A., Leisenring, W., Crowley, J. & Storer, B.E. (1999) Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: New representations of old estimators. *Statistics in Medicine*, 18, 695–706 Available at: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(19990330\)18:6<695::AID-SIM60>3.0.CO;2-O](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0258(19990330)18:6<695::AID-SIM60>3.0.CO;2-O).
- Grant, A., Chapman, L., Mitchel, R. & O'Brien, T. (2020) Engraftment syndrome following haematopoietic stem cell transplant: A review of the literature. *Clinical Transplantation*, 1–26 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/ctr.13875>.
- Greinix, H.T., Knobler, R.M., Worel, N., Schneider, B., Schneeberger, A., Hoecker, P., Mitterbauer, M., Rabitsch, W., Schulenburg, A. & Kalhs, P. (2006) The effect of intensified extracorporeal photochemotherapy on long-term survival in patients with severe acute graft-versus-host disease. *Haematologica*, 91, 405–408 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=16531267&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Greinix, H.T., Loddenkemper, C., Pavletic, S.Z., Holler, E., Socié, G., Lawitschka, A., Halter, J. & Wolff, D. (2011) Diagnosis and staging of chronic graft-versus-host disease in the clinical practice. *Biology of blood and marrow transplantation*, 17, 167–175 Available at:

- <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=20691801&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Greinix, H.T., Pohlreich, D., Kouba, M., Kormoczi, U., Lohmann, I., Feldmann, K., Zielinski, C. & Pickl, W.F. (2008) Elevated numbers of immature/transitional CD21-B lymphocytes and deficiency of memory CD27+ B cells identify patients with active chronic graft-versus-host disease. *YBBMT*, 14, 208–219 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=18215781&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Grube, M., Holler, E., Weber, D., Holler, B., Herr, W. & Wolff, D. (2016) Risk Factors and Outcome of Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation—Results from a Single-Center Observational Study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 22, 1781–1791.
- Hakim, F.T., Memon, S., Jin, P., Imanguli, M.M., Wang, H., Rehman, N., Yan, X.-Y., Rose, J., Mays, J.W., Dhamala, S., Kapoor, V., Telford, W., Dickinson, J., Davis, S., Halverson, D., Naik, H.B., Baird, K., Fowler, D., Stroncek, D., Cowen, E.W., et al (2016) Upregulation of IFN-Inducible and Damage-Response Pathways in Chronic Graft-versus-Host Disease. *The Journal of Immunology*, 197, 3490–3503 Available at: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.1601054>.
- Harris, A.C., Ferrara, J.L.M., Braun, T.M., Holler, E., Teshima, T., Levine, J.E., Choi, S.W., Landfried, K., Akashi, K., Lugt, M.V., Couriel, D.R., Reddy, P. & Paczesny, S. (2012) Plasma biomarkers of lower gastrointestinal and liver acute GVHD. *Blood*, 119, 2960–2963 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=22286196&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Hartwell, M.J., Özbek, U., Holler, E., Renteria, A.S., Major-Monfried, H., Reddy, P., Aziz, M., Hogan, W.J., Ayuk, F., Efebera, Y.A., Hexner, E.O., Bunworasate, U., Qayed, M., Ordemann, R., Wölfl, M., Mielke, S., Pawarode, A., Chen, Y.-B., Devine, S., Harris, A.C., et al (2017) An early-biomarker algorithm predicts lethal graft-versus-host disease and survival. 2, e89798 Available at: <https://insight.jci.org/articles/view/89798>.
- Häusermann, P., Janin, A., Wolff, D., Lawitschka, A., Greinix, H., Meyer, R., Ziemer, M., Häusermann, P., Massi, D., Ziepert, M., Hillen, U. & Ziemer, M. (2013) Graft-versus-host disease of the skin and adjacent mucous membranes. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG*, 11, 477–495 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=23721594&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- He, F.C. & Holtan, S.G. (2018) Biomarkers in Graft-Versus-Host Disease: from Prediction and Diagnosis to Insights into Complex Graft/Host Interactions. *Current Hematologic Malignancy Reports*, 1–9 Available at: <https://mail.google.com/mail/u/0/>.
- Heinzerling, L., Dummer, R., Kempf, W., Schmid, M.H. & Burg, G. (2000) Intralesional Therapy With Anti-CD20 Monoclonal Antibody Rituximab in Primary Cutaneous B-Cell Lymphoma. *Archives of Dermatology*, 136, 374–378 Available at: <https://jamanetwork.com/journals/jamadermatology/fullarticle/190010>.

- Heldal, D., Brinch, L., Evensen, S.A., Tjønnfjord, G.E., Aamodt, G., Elgjo, K. & Sviland, L. (2004) Skin biopsies for early diagnosis and prognosis of graft-versus-host disease in recipients of allogeneic stem cells from blood or bone marrow. 34, 345–350 Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704568>.
- Hill, G.R. & Ferrara, J.L. (2000) The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 95, 2754–2759 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=10779417&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Hillen, U., Häusermann, P., Massi, D., Janin, A., Wolff, D., Lawitschka, A., Greinix, H., Meyer, R. & Ziemer, M. (2015) Consensus on performing skin biopsies, laboratory workup, evaluation of tissue samples and reporting of the results in patients with suspected cutaneous graft-versus-host disease. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 29, 948–954 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/jdv.12737>.
- Hori, T., Naishiro, Y., Sohma, H., Suzuki, N., Hatakeyama, N., Yamamoto, M., Sonoda, T., Mizue, Y., Imai, K., Tsutsumi, H. & Kokai, Y. (2008) CCL8 is a potential molecular candidate for the diagnosis of graft-versus-host disease. *Blood*, 111, 4403–4412 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=18256320&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Horn, T.D., Redd, J.V., Karp, J.E., Beschorner, W.E., Burke, P.J. & Hood, A.F. (1989) Cutaneous Eruptions of Lymphocyte Recovery. *Archives of Dermatology*, 125, 1512–1517 Available at: <https://doi.org/10.1001/archderm.1989.01670230054008>.
- Horowitz, M., Schreiber, H., Elder, A., Heidenreich, O., Vormoor, J., Toffalori, C., Vago, L. & Kröger, N. (2018) Epidemiology and biology of relapse after stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 53, 1379–1389 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=29670211&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Horwitz, M.E. & Sullivan, K.M. (2005) Chronic graft-versus-host disease. *Blood Rev*, 20, 15–27 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16426941>.
- Hothorn, T. & Lausen, B. (2003) On the exact distribution of maximally selected rank statistics. *Computational Statistics & Data Analysis*, 43, 121–137 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167947302002256>.
- Hymes, S.R., Alousi, A.M. & Cowen, E.W. (2012) Graft-versus-host disease: Part I. Pathogenesis and clinical manifestations of graft-versus-host disease. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 66, 515.e1-515.e18 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962211023577>.
- Ianni, M.D., Falzetti, F., Carotti, A., Terenzi, A., Castellino, F., Bonifacio, E., Papa, B.D., Zei, T., Ostini, R.I., Cecchini, D., Aloisi, T., Perruccio, K., Ruggeri, L., Balucani, C., Pierini, A., Sportoletti, P., Aristei, C., Falini, B., Reisner, Y., Velardi, A., et al (2011) Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood*, 117, 3921–3928 Available at:

- <https://ashpublications.org/blood/article/117/14/3921/20502/Tregs-prevent-GVHD-and-promote-immune>.
- Imanguli, M.M., Alevizos, I., Brown, R., Pavletic, S.Z. & Atkinson, J.C. (2008) Oral graft-versus-host disease. *Oral diseases*, 14, 396–412 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1601-0825.2008.01448.x>.
- Inamoto, Y., Martin, P.J., Paczesny, S., Tabellini, L., Momin, A.A., Mumaw, C.L., Flowers, M.E.D., Lee, S.J., Carpenter, P.A., Storer, B.E., Hanash, S. & Hansen, J.A. (2017) Association of Plasma CD163 Concentration with De Novo-Onset Chronic Graft-versus-Host Disease. *YBBMT*, 23, 1250–1256 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=28455006&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Inamoto, Y., Pidala, J., Chai, X., Kurland, B.F., Weisdorf, D., Flowers, M.E.D., Palmer, J., Arai, S., Jacobsohn, D., Cutler, C., Jagasia, M., Goldberg, J.D., Martin, P.J., Pavletic, S.Z., Vogelsang, G.B., Lee, S.J. & Carpenter, P.A. (2014) Joint and fascia manifestations in chronic graft-versus-host disease and their assessment. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 66, 1044–1052 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4014356/>.
- Inamoto, Y., Storer, B.E., Petersdorf, E., Nelson, J.L., Lee, S.J., Carpenter, P.A., Sandmaier, B.M., Hansen, J.A., Martin, P.J., Flowers, M.E.D. & Flowers (2013) Incidence, risk factors, and outcomes of sclerosis in patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 121, 5098–5103 Available at: <https://ashpublications.org/blood/article-abstract/121/25/5098/125581>.
- Jacobs, R., Tran, U., Chen, H., Kassim, A., Engelhardt, B.G., Greer, J.P., Goodman, S.G., Clifton, C., Lucid, C., Vaughan, L.A., Savani, B.N. & Jagasia, M. (2012) Prevalence and risk factors associated with development of ocular GVHD defined by NIH consensus criteria. *Bone Marrow Transplantation*, 47, 1470–1473 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/bmt.2012.56>.
- Jacobsohn, D.A., Hallick, J., Anders, V., McMillan, S., Morris, L. & Vogelsang, G.B. (2003) Infliximab for steroid-refractory acute GVHD: A case series. *American Journal of Hematology*, 74, 119–124 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ajh.10392>.
- Jacobson, C.A., Turki, A.T., McDonough, S.M., Stevenson, K.E., Kim, H.T., Kao, G., Herrera, M.I., Reynolds, C.G., Alyea, E.P., Ho, V.T., Koreth, J., Armand, P., Chen, Y.-B., Ballen, K., Soiffer, R.J., Antin, J.H., Cutler, C.S. & Ritz, J. (2012) Immune reconstitution after double umbilical cord blood stem cell transplantation: Comparison with unrelated peripheral blood stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 18, 565–574 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S108387911100351X>.
- Jagasia, M., Zeiser, R., Arbushites, M., Delaite, P., Gadnaw, B. & Bubnoff, N. von (2018) Ruxolitinib for the treatment of patients with steroid-refractory GVHD: an introduction to the REACH trials. *Immunotherapy*, 10, 391–402 Available at: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/imt-2017-0156>.
- Jagasia, M.H., Greinix, H.T., Arora, M., Williams, K.M., Wolff, D., Cowen, E.W., Palmer, J., Weisdorf, D., Treister, N.S., Cheng, G.-S., Kerr, H., Stratton, P., Duarte, R.F.,



- McDonald, G.B., Inamoto, Y., Vigorito, A., Arai, S., Datile, M.B., Jacobsohn, D., Heller, T., et al (2015) National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group Report. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 21, 389-401.e1 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879114013780>.
- Jerome, K.R., Conyers, S.J., Hansen, D.A. & Zebala, J.A. (1998) Keratinocyte apoptosis following bone marrow transplantation: evidence for CTL-dependent and -independent pathways. *Bone Marrow Transplantation*, 22, 359–366 Available at: <http://www.nature.com/articles/1701344>.
- Kanakry, C.G., Bakoyannis, G., Perkins, S.M., McCurdy, S.R., Vulic, A., Warren, E.H., Daguindau, E., Olmsted, T., Mumaw, C., Towler, A.M.H., Cooke, K.R., O'Donnell, P.V., Symons, H.J., Paczesny, S. & Luznik, L. (2017) Plasma-derived proteomic biomarkers in human leukocyte antigen-haploidentical or human leukocyte antigen-matched bone marrow transplantation using post-transplantation cyclophosphamide. *Haematologica*, 102, 932–940.
- Kanda, J., Nakasone, H., Atsuta, Y., Toubai, T., Yokoyama, H., Fukuda, T., Taniguchi, S., Ohashi, K., Ogawa, H., Eto, T., Miyamura, K., Morishima, Y., Nagamura-Inoue, T., Sakamaki, H., Murata, M. & Transplantation, on behalf of the G.W.G. of the J.S. for H.C. (2014) Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan. 49, 228–235 Available at: <https://doi.org/10.1038/bmt.2013.151>.
- Kaplan, E.L. & Meier, P. (1958) Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*, 53, 457–481 Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1958.10501452>.
- Karimnia, A., Holtan, S.G., Ivison, S., Rozmus, J., Hebert, M.-J., Martin, P.J., Lee, S.J., Wolff, D., Subrt, P., Abdossamadi, S., Sung, S., Storek, J., Levings, M., Aljurf, M., Arora, M., Cutler, C., Gallagher, G., Kuruvilla, J., Lipton, J., Nevill, T.J., et al (2016) Heterogeneity of chronic graft-versus-host disease biomarkers: association with CXCL10 and CXCR3+ NK cells. *Blood*, 127, 3082–3091 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=27020088&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Kaye, V.N., Neumann, P.M., Kersey, J., Goltz, R.W., Baldrige, B.D., Michael, A.F. & Platt, J.L. (1984) Identity of immune cells in graft-versus-host disease of the skin. Analysis using monoclonal antibodies by indirect immunofluorescence. *The American journal of pathology*, 116, 436–40.
- Khoury, H.J., Wang, T., Hemmer, M.T., Couriel, D., Alousi, A., Cutler, C., Aljurf, M., Antin, J.H., Ayas, M., Battiwalla, M., Cahn, J.-Y., Cairo, M., Chen, Y.-B., Gale, R.P., Hashmi, S., Hayashi, R.J., Jagasia, M., Juckett, M., Kamble, R.T., Kharfan-Dabaja, M., et al (2017) Improved survival after acute graft-versus-host disease diagnosis in the modern era. *Haematologica*, 102, 958–966 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=28302712&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Kim, D.H., Sohn, S.K., Kim, J.G., Suh, J.S., Lee, K.S. & Lee, K.B. (2004) Clinical impact of hyperacute graft-versus-host disease on results of allogeneic stem cell

- transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 33, 1025 EP- Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704479>.
- Kircher, B., Schumacher, P. & Nachbaur, D. (2009) Granzymes A and B serum levels in allo-SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 43, 787–791 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=19079312&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Kitamura, K., Asada, H., Iida, H., Fukumoto, T., Kobayashi, N., Niizeki, H., Morii, T., Kimura, H. & Miyagawa, S. (2008) Relationship among human herpesvirus 6 reactivation, serum interleukin 10 levels, and exantema/graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Journal of American Dermatology*, 58, 802–809 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=18367292&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Kitazawa, Y., Fujino, M., Wang, Q., Kimura, H., Azuma, M., Kubo, M., Abe, R. & Li, X.-K. (2007) Involvement of the Programmed Death-1/Programmed Death-1 Ligand Pathway in CD4+CD25+ Regulatory T-Cell Activity to Suppress Alloimmune Responses. *Transplantation*, 83, 774–782 Available at: <http://journals.lww.com/00007890-200703270-00020>.
- Kitko, C.L., Levine, J.E., Storer, B.E., Chai, X., Fox, D.A., Braun, T.M., Couriel, D.R., Martin, P.J., Flowers, M.E., Hansen, J.A., Chang, L., Conlon, M., Fiema, B.J., Morgan, R., Pongtornpipat, P., Lamiman, K., Ferrara, J.L.M., Lee, S.J. & Paczesny, S. (2014) Plasma CXCL9 elevations correlate with chronic GVHD diagnosis. *Blood*, 123, 786–793 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=24363401&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Klein, A.K., Patel, D.D., Gooding, M.E., Sempowski, G.D., Chen, B.J., Liu, C., Kurtzberg, J., Haynes, B.F. & Chao, N.J. (2001) T-Cell recovery in adults and children following umbilical cord blood transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 7, 454–66.
- Kohler, S., Hendrickson, M.R., Chao, N.J. & Smoller, B.R. (1997) Value of Skin Biopsies in Assessing Prognosis and Progression of Acute Graft-Versus-Host Disease. *The American journal of surgical pathology*, 21, 988–996 Available at: [https://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/1997/09000/Value\\_of\\_Skin\\_Biopsies\\_in\\_Assessing\\_Prognosis\\_and.2.aspx](https://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/1997/09000/Value_of_Skin_Biopsies_in_Assessing_Prognosis_and.2.aspx).
- Komanduri, K.V., John, L.S.S., Lima, M. de, McMannis, J., Rosinski, S., McNiece, I., Bryan, S.G., Kaur, I., Martin, S., Wieder, E.D., Worth, L., Cooper, L.J.N., Petropoulos, D., Molldrem, J.J., Champlin, R.E. & Shpall, E.J. (2007) Delayed immune reconstitution after cord blood transplantation is characterized by impaired thymopoiesis and late memory T-cell skewing. *Blood*, 110, 4543–51.
- Kreutz, M., Karrer, S., Hoffmann, P., Gottfried, E., Szeimies, R.-M., Hahn, J., Edinger, M., Landthaler, M., Andreessen, R., Merad, M. & Holler, E. (2012) Whole-body UVB irradiation during allogeneic hematopoietic cell transplantation is safe and decreases acute graft-versus-host disease. *The Journal of investigative dermatology*, 132, 179–187 Available at:

- <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=21850024&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Kuykendall, T.D. & Smoller, B.R. (2003) Lack of specificity in skin biopsy specimens to assess for acute graft-versus-host disease in initial 3 weeks after bone-marrow transplantation. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 49, 1081–1085 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S019096220302098X>.
- Kuzmina, Z., Gounden, V., Curtis, L., Avila, D., Taylor, T., Baruffaldi, J., Cowen, E.W., Naik, H.B., Hasni, S.A., Mays, J.W., Mitchell, S., Baird, K., Steinberg, S.M. & Pavletic, S.Z. (2015) Clinical significance of autoantibodies in a large cohort of patients with chronic graft-versus-host disease defined by NIH criteria. *American Journal of Hematology*, 90, 114–119 Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5535796/>.
- Kuzmina, Z., Krenn, K., Petkov, V., Kormoczi, U., Weigl, R., Rottal, A., Kalhs, P., Mitterbauer, M., Ponhold, L., Dekan, G., Greinix, H.T. & Pickl, W.F. (2013) CD19(+)CD21(low) B cells and patients at risk for NIH-defined chronic graft-versus-host disease with bronchiolitis obliterans syndrome. *Blood*, 121, 1886–1895 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=23303823&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Lampert, I.A., Janossy, G., Suitters, A.J., Bofill, M., Palmer, S., Gordon-Smith, E., Prentice, H.G. & Thomas, J.A. (1982) Immunological analysis of the skin in graft versus host disease. *Clinical and experimental immunology*, 50, 123–31.
- Lampert, I.A., Suitters, A.J., Janossy, G., Thomas, J.A., Palmer, S. & Smith, E.G. (1981) Lymphoid Infiltrates in Skin IN Graft-Versus-Host Disease. *Originally published as Volume 2, Issue 8259, 318, 1352* Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673681913787>.
- Lee, S.J. & Flowers, M.E.D. (2008) Recognizing and Managing Chronic Graft-Versus-Host Disease. *Hematology*, 2008, 134–141.
- Lee, S.J., Vogelsang, G. & Flowers, M.E.D. (2003) Chronic graft-versus-host disease. *Biology of blood and marrow transplantation*, 9, 215–233 Available at: <http://pubmed.gov/12720215>.
- Lee, S.J., Wolff, D., Kitko, C., Koreth, J., Inamoto, Y., Jagasia, M., Pidala, J., Olivieri, A., Martin, P.J., Przepiorka, D., Pusic, I., Dignan, F., Mitchell, S.A., Lawitschka, A., Jacobsohn, D., Hall, A.M., Flowers, M.E.D., Schultz, K.R., Vogelsang, G. & Pavletic, S. (2015) Measuring therapeutic response in chronic graft-versus-host disease. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: IV. The 2014 Response Criteria Working Group report. *Biology of blood and marrow transplantation*, 21, 984–999 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4744804/>.
- Lehman, J.S., Gibson, L.E., el-Azhary, R.A., Chavan, R.N., Hashmi, S.K., Lohse, C.M. & Flotte, T.J. (2014) Acute cutaneous graft-vs.-host disease compared to drug hypersensitivity reaction with vacuolar interface changes: a blinded study of microscopic and immunohistochemical features. 42, 39–45 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/cup.12427>.



- Lerner, K.G., Kao, G.F., Storb, R., Buckner, C.D., Clift, R.A. & Thomas, E.D. (1974) Histopathology of graft-vs.-host reaction (GvHR) in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *TPS*, 6, 367–371 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=4155153&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Lever, R., Turbitt, M., Mackie, R., Hann, I., Gibson, B., Burnett, A. & Willoughby, M. (1986) A prospective study of the histological changes in the skin in patients receiving bone marrow transplants. *British Journal of Dermatology*, 114, 161–170 Available at: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=0022598022&origin=inward>.
- Levine, J.E., Braun, T.M., Harris, A.C., Holler, E., Taylor, A., Miller, H., Magenau, J., Weisdorf, D.J., Ho, V.T., Bolaños-Meade, J., Alousi, A.M. & Ferrara, J.L.M. (2015) A prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers: a multicentre study. 2, e21–e29 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352302614000350>.
- Levine, J.E., Logan, B.R., Wu, J., Alousi, A.M., Bolaños-Meade, J., Ferrara, J.L.M., Ho, V.T., Weisdorf, D.J. & Paczesny, S. (2012) Acute graft-versus-host disease biomarkers measured during therapy can predict treatment outcomes: A blood and marrow transplant clinical trials network study. *Blood*, 119, 3854–3860 Available at: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=84860345135&origin=inward>.
- Lint, M.T.V., Uderzo, C., Locasciulli, A., Majolino, I., Locatelli, F., Giorgiani, G., Arcese, W., Lori, A.P., Falda, M., Bosi, A., Miniero, R., Alessandrino, P., Dini, G., Rotoli, B. & Bacigalupo, A. (1998) Early Treatment of Acute Graft-Versus-Host Disease With High- or Low-Dose 6-Methylprednisolone: A Multicenter Randomized Trial From the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Blood*, 92, 2288–2293.
- Liu, X., Yue, Z., Yu, J., Daguindau, E., Kushekhar, K., Zhang, Q., Ogata, Y., Gafken, P.R., Inamoto, Y., Gracon, A., Wilkes, D.S., Hansen, J.A., Lee, S.J., Chen, J.Y. & Paczesny, S. (2016) Proteomic Characterization Reveals That MMP-3 Correlates With Bronchiolitis Obliterans Syndrome Following Allogeneic Hematopoietic Cell and Lung Transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 16, 2342–2351 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=26887344&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Lopez, M., Clarkson, M.R., Albin, M., Sayegh, M.H. & Najafian, N. (2006) A novel mechanism of action for anti-thymocyte globulin: induction of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 17, 2844–2853 Available at: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1681/ASN.2006050422>.
- Luft, T., Conzelmann, M., Benner, A., Rieger, M., Hess, M., Strohhaecker, U., Görner, M., Hegenbart, U., Ho, A.D. & Dreger, P. (2007) Serum cytokeratin-18 fragments as quantitative markers of epithelial apoptosis in liver and intestinal graft-versus-host disease. *Blood*, 110, 4535–4542 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=17702900&retmode=ref&cmd=prlinks>.

- Lugt, M.T.V., Braun, T.M., Hanash, S., Ritz, J., Ho, V.T., Antin, J.H., Zhang, Q., Wong, C.-H., Wang, H., Chin, A., Gomez, A., Harris, A.C., Levine, J.E., Choi, S.W., Couriel, D., Reddy, P., Ferrara, J.L.M. & Paczesny, S. (2013) ST2 as a Marker for Risk of Therapy-Resistant Graft-versus-Host Disease and Death. *New England Journal of Medicine*, 369, 529–539 Available at: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1213299>.
- MacMillan, M.L., DeFor, T.E., Holtan, S.G., Rashidi, A., Blazar, B.R. & Weisdorf, D.J. (2019) Validation of Minnesota acute graft-versus-host disease Risk Score. *Haematologica* Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=31320554&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- MacMillan, M.L., Robin, M., Harris, A.C., DeFor, T.E., Martin, P.J., Alousi, A., Ho, V.T., Bolaños-Meade, J., Ferrara, J.L.M., Jones, R., Arora, M., Blazar, B.R., Holtan, S.G., Jacobsohn, D., Pasquini, M., Socié, G., Antin, J.H., Levine, J.E. & Weisdorf, D.J. (2015) A refined risk score for acute graft-versus-host disease that predicts response to initial therapy, survival, and transplant-related mortality. *Biology of blood and marrow transplantation*, 21, 761–767 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=25585275&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- MacMillan, M.L., Weisdorf, D.J., Davies, S.M., DeFor, T.E., Burns, L.J., Ramsay, N.K.C., Wagner, J.E. & Blazar, B.R. (2002a) Early antithymocyte globulin therapy improves survival in patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Biology of blood and marrow transplantation*, 8, 40–46 Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1083879102500641>.
- MacMillan, M.L., Weisdorf, D.J., Wagner, J.E., DeFor, T.E., Burns, L.J., Ramsay, N.K.C., Davies, S.M. & Blazar, B.R. (2002b) Response of 443 patients to steroids as primary therapy for acute graft-versus-host disease: comparison of grading systems. *YBBMT*, 8, 387–394 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879102500240>.
- Maeda, Y., Levy, R.B., Reddy, P., Liu, C., Clouthier, S.G., Teshima, T. & Ferrara, J.L.M. (2005) Both perforin and Fas ligand are required for the regulation of alloreactive CD8+ T cells during acute graft-versus-host disease. *Blood*, 105, 2023–2027 Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/105/5/2023.abstract>.
- Mahabal, G.D., George, L., Peter, D., Bindra, M., Thomas, M., Srivastava, A., Mathews, V., George, B. & Pulimood, S.A. (2018) Utility of tissue elafin as an immunohistochemical marker for diagnosis of acute skin graft-versus-host disease: a pilot study. 44, 161–168 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/ced.13678>.
- Majhail, N.S., Brazauskas, R., Rizzo, J.D., Sobecks, R.M., Wang, Z., Horowitz, M.M., Bolwell, B., Wingard, J.R. & Socié, G. (2011) Secondary solid cancers after allogeneic hematopoietic cell transplantation using busulfan-cyclophosphamide conditioning. *Blood*, 117, 316–322 Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/117/1/316/28717/Secondary-solid-cancers-after-allogeneic>.
- Marks, C., Stadler, M., Häusermann, P., Wolff, D., Buchholz, S., Stary, G., Lee, S., Lawitschka, A. & Bertz, H. (2011) German-Austrian-Swiss Consensus Conference

- on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): Guidance for supportive therapy of chronic cutaneous and musculoskeletal GVHD. *British Journal of Dermatology*, 165, 18–29 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2133.2011.10360.x>.
- Marra, D.E., McKee, P.H. & Nghiem, P. (2004) Tissue eosinophils and the perils of using skin biopsy specimens to distinguish between drug hypersensitivity and cutaneous graft-versus-host disease. 51, 543–546 Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962204007406>.
- Martin, P.J., Lee, S.J., Przepiorka, D., Horowitz, M.M., Koreth, J., Vogelsang, G.B., Walker, I., Carpenter, P.A., Griffith, L.M., Akpek, G., Mohty, M., Wolff, D., Pavletic, S.Z. & Cutler, C.S. (2015) National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: VI. The 2014 Clinical Trial Design Working Group Report. *Biology of blood and marrow transplantation*, 21, 1343–1359 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879115003274>.
- Martin, P.J., Rizzo, J.D., Wingard, J.R., Ballen, K., Curtin, P.T., Cutler, C., Litzow, M.R., Nieto, Y., Savani, B.N., Schriber, J.R., Shaughnessy, P.J., Wall, D.A. & Carpenter, P.A. (2012) First- and Second-Line Systemic Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease: Recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation. 18, 1150–1163 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879112001449>.
- Martin, P.J., Schoch, G., Fisher, L., Byers, V., Anasetti, C., Appelbaum, F.R., Beatty, P.G., Doney, K., McDonald, G.B. & Sanders, J.E. (1990) A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. *Blood*, 76, 1464–1472 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=2207321&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Martino, R., Romero, P., Subirá, M., Bellido, M., Altés, A., Sureda, A., Brunet, S., Badell, I., Cubells, J. & Sierra, J. (1999) Comparison of the classic Glucksberg criteria and the IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease following HLA-identical sibling stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 24, 283–287 Available at: <http://www.nature.com/articles/1701899>.
- Massi, D., Franchi, A., Pimpinelli, N., Laszlo, D., Bosi, A. & Santucci, M. (1999) A Reappraisal of the Histopathologic Criteria for the Diagnosis of Cutaneous Allogeneic Acute Graft-vs-Host Disease. *American Journal of Clinical Pathology*, 112, 791–800.
- Matsuoka, K., Kim, H.T., McDonough, S., Bascug, G., Warshauer, B., Koreth, J., Cutler, C., Ho, V.T., Alyea, E.P., Antin, J.H., Soiffer, R.J. & Ritz, J. (2010) Altered regulatory T cell homeostasis in patients with CD4+ lymphopenia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Clinical Investigation*, 120, 1479–1493.
- McGlave, P.B., Shu, X.O., Wen, W., Anasetti, C., Nademanee, A., Champlin, R., Antin, J.H., Kernan, N.A., King, R. & Weisdorf, D.J. (2000) Unrelated donor marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: 9 years' experience of the national marrow donor program. *Blood*, 95, 2219–2225 Available at:

- <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=10733488&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Metafuni, E., Giammarco, S., Ritis, D.G.D., Rossi, M., Corrente, F., Piccirillo, N., Bacigalupo, A.P., Sica, S. & Chiusolo, P. (2017) Changes in protein serum levels during stem cell transplantation. *European journal of clinical investigation*, 47, 711–718 Available at: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=85028925851&origin=inward>.
- Miklos, D., Cutler, C.S., Arora, M., Waller, E.K., Jagasia, M., Pusic, I., Flowers, M.E., Logan, A.C., Nakamura, R., Blazar, B.R., Li, Y., Chang, S., Lal, I., Dubovsky, J., James, D.F., Styles, L. & Jaglowski, S. (2017) Ibrutinib for chronic graft-versus-host disease after failure of prior therapy. *Blood*, 130, 2243–2250 Available at: <http://www.bloodjournal.org/lookup/doi/10.1182/blood-2017-07-793786>.
- Moscardó, F., Sanz, J., Carbonell, F., Sanz, M.A., Larrea, L., Montesinos, P., Lorenzo, I., Vera, B., Boluda, B., Salazar, C., Cañigral, C., Planelles, D., Jarque, I., Solves, P., Martín, G., López, F., Rubia, J. de la, Martínez, J., Carpio, N., Martínez-Cuadrón, D., et al (2014) Effect of CD8+ Cell Content on Umbilical Cord Blood Transplantation in Adults with Hematological Malignancies. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 20, 1744–1750.
- Nagasawa, M., Isoda, T., Itoh, S., Kajiwar, M., Morio, T., Shimizu, N., Ogawa, K., Nagata, K., Nakamura, M. & Mizutani, S. (2006) Analysis of serum granulysin in patients with hematopoietic stem-cell transplantation: Its usefulness as a marker of graft-versus-host reaction. *American Journal of Hematology*, 81, 340–348 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ajh.20570>.
- Nethers, K., Messina, J. & Seminario-Vidal, L. (2017) Eccrine squamous syringometaplasia in an allogenic stem cell transplant patient undergoing chemotherapy. *Dermatology online journal*, 23, Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=29469718&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Nghiem, P. (2001) The Drug vs Graft-vs-Host Disease Conundrum Gets Tougher, but There Is an Answer: The Challenge to Dermatologists. *Archives of Dermatology*, 137, 75–76.
- Nguyen, V.H., Shashidhar, S., Chang, D.S., Ho, L., Kambham, N., Bachmann, M., Brown, J.M. & Negrin, R.S. (2008) The impact of regulatory T cells on T-cell immunity following hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 111, 945–953.
- Niehues, T., Rocha, V., Filipovich, A.H., Chan, K.W., Porcher, R., Michel, G., Ortega, J.J., Wernet, P., Göbel, U., Gluckman, E. & Locatelli, F. (2001) Factors affecting lymphocyte subset reconstitution after either related or unrelated cord blood transplantation in children – a Eurocord analysis. *British Journal of Haematology*, 114, 42–48.
- Nikaein, A., Phillips, C., Gilbert, S.C., Savino, D., Silverman, A., Stone, M.J. & Menter, A. (1991) Characterization of Skin-Infiltrating Lymphocytes in Patients with Psoriasis. *Journal of Investigative Dermatology*, 96, 3–9.

- Nishiwaki, S., Terakura, S., Ito, M., Goto, T., Seto, A., Watanabe, K., Yanagisawa, M., Imahashi, N., Tsukamoto, S., Shimba, M., Ozawa, Y. & Miyamura, K. (2009) Impact of macrophage infiltration of skin lesions on survival after allogeneic stem cell transplantation: a clue to refractory graft-versus-host disease. *Blood*, 114, 3113–3116 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=19643987&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Nomura, S., Ishii, K., Fujita, S., Nakaya, A., Satake, A. & Ito, T. (2017) Associations between acute GVHD-related biomarkers and endothelial cell activation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Immunology*, 43–44, 27–32 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trim.2017.06.004>.
- Norton, J., al-Saffar, N. & Sloane, J.P. (1992) Adhesion molecule expression in human hepatic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*, 10, 153–156 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1381979>.
- Norton, J. & Sloane, J.P. (1994) A Prospective Study of Cellular and Immunologic Changes in Skin of Allogeneic Bone Marrow Recipients: Relationship to Clinical and Histologic Features of Acute Graft–Versus–Host Disease. 101, 597–602 Available at: <https://doi.org/10.1093/ajcp/101.5.597>.
- Norton, J., Sloane, J.P., al-Saffar, N. & Haskard, D.O. (1991) Vessel associated adhesion molecules in normal skin and acute graft-versus-host disease. *J Clin Pathol*, 44, 586–591 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC496800>.
- Ollivier, I., Wolkenstein, P., Gherardi, R., Wechsler, J., Kuentz, M., Cosnes, A., Revuz, J. & Bagot, M. (1998) Dermatomyositis-like graft-versus-host disease. *British Journal of Dermatology*, 138, 558–559 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=9580831&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Olsson, R., Remberger, M., Schaffer, M., Berggren, D.M., Svahn, B.-M., Mattsson, J. & Ringden, O. (2019) Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 1–7.
- Or, R., Kalinkovich, A., Nagler, A., Weisman, Z., Naparstek, E., Weiss, L. & Hahn, T. (1996) Soluble tumor necrosis factor (sTNF) receptors: a possible prognostic marker for bone marrow transplantation-related complications. *Cytokines and molecular therapy*, 2, 243–250 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=9384711&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Ottinger, H., Beelen, D., Scheulen, B., Schaefer, U. & Grosse-Wilde, H. (1996) Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. *Blood*, 88, 2775–2779.
- Paczesny, S., Braun, T., Lugt, M.V., Harris, A., Fiema, B., Hernandez, J., Choi, S.W., Kitko, C., Magenau, J., Yanik, G., Peres, E.M., Pawarode, A., Mineishi, S., Whitfield, J., Jones, D., Couriel, D., Pavan, R., Hanash, S., Ferrara, J.L.M. & Levine, J.E. (2011) A Three Biomarker Panel At Days 7 And 14 Can Predict Development Of



- Grade II-IV Acute Graft-Versus-Host Disease. *YBBMT*, 17, S167 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2010.12.048>.
- Paczesny, S., Braun, T.M., Levine, J.E., Hogan, J., Crawford, J., Coffing, B., Olsen, S., Choi, S.W., Wang, H., Fata, V., Pitteri, S., Zhang, Q., Chin, A., Kitko, C., Mineishi, S., Yanik, G., Peres, E., Hanauer, D., Wang, Y., Reddy, P., et al (2010) Elafin Is a Biomarker of Graft-Versus-Host Disease of the Skin. *Science Translational Medicine*, 2, 13ra2-13ra2 Available at: <https://stm.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/scitranslmed.3000406>.
- Paczesny, S., Hakim, F.T., Pidala, J., Cooke, K.R., Lathrop, J., Griffith, L.M., Hansen, J., Jagasia, M., Miklos, D., Pavletic, S., Parkman, R., Russek-Cohen, E., Flowers, M.E.D., Lee, S., Martin, P., Vogelsang, G., Walton, M. & Schultz, K.R. (2015) National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: III. The 2014 Biomarker Working Group Report. 21, 780–792 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879115000075>.
- Paczesny, S., Krijanovski, O.I., Braun, T.M., Choi, S.W., Clouthier, S.G., Kuick, R., Misek, D.E., Cooke, K.R., Kitko, C.L., Weyand, A., Bickley, D., Jones, D., Whitfield, J., Reddy, P., Levine, J.E., Hanash, S.M. & Ferrara, J.L.M. (2009) A biomarker panel for acute graft-versus-host disease. 113, 273–278 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=18832652&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Palmer, J., Williams, K., Inamoto, Y., Chai, X., Martin, P.J., Tomas, L.H.S., Cutler, C., Weisdorf, D., Kurland, B.F., Carpenter, P.A., Pidala, J., Pavletic, S.Z., Wood, W., Jacobsohn, D., Arai, S., Arora, M., Jagasia, M., Vogelsang, G.B. & Lee, S.J. (2014) Pulmonary Symptoms Measured by the National Institutes of Health Lung Score Predict Overall Survival, Nonrelapse Mortality, and Patient-Reported Outcomes In Chronic Graft-Versus-Host Disease. *YBBMT*, 20, 337–344 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2013.11.025>.
- Patel, A.R., Pavletic, S.Z., Turner, M.L. & Cowen, E.W. (2008) The isomorphic response in morphealike chronic graft-vs-host disease. *Archives of Dermatology*, 144, 1229–1231 Available at: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=51949094307&origin=inward>.
- Pavletic, S.Z., Vogelsang, G.B. & Lee, S.J. (2015) 2014 National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: preface to the series. *Biology of blood and marrow transplantation*, 21, 387–388 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879114014815>.
- Penas, P.F., Jones-Caballero, M., Aragüés, M., Fernández-Herrera, J., Fraga, J. & García-Díez, A. (2002) Sclerodermatous graft-vs-host disease: clinical and pathological study of 17 patients. *Archives of Dermatology*, 138, 924–934 Available at: <http://archderm.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archderm.138.7.924>.
- Penas, P.F. & Zaman, S. (2010) Many faces of graft- versus-host disease. *Australasian Journal of Dermatology*, 51, 1–10 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1440-0960.2009.00577.x>.

- Perez-Simon, J.A., Encinas, C., Silva, F., Arcos, M.J., Díez-Campelo, M., Sánchez-Guijo, F.M., Colado, E., Martín, J., Vazquez, L., Cañizo, C. del, Caballero, D. & Miguel, J.S. (2008) Prognostic Factors of Chronic Graft-versus-Host Disease Following Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation: The National Institutes Health Scale Plus the Type of Onset Can Predict Survival Rates and the Duration of Immunosuppressive Therapy. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 14, 1163–1171 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879108003431>.
- Perz, J.B., Gürel, S., Schonland, S.O., Hegenbart, U., Ho, A.D. & Dreger, P. (2012) CD4+CD25highCD127low Regulatory T Cells in Peripheral Blood Are Not an Independent Factor for Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *The Scientific World Journal*, 2012, 606839.
- Pfundt, R., Ruissen, F. van, Vlijmen-Willems, I.M. van, Alkemade, H.A., Zeeuwen, P.L., Jap, P.H., Dijkman, H., Fransen, J., Croes, H., Erp, P.E. van & Schalkwijk, J. (1996) Constitutive and inducible expression of SKALP/elafin provides anti-elastase defense in human epithelia. *Journal of Clinical Investigation*, 98, 1389–1399 Available at: <http://www.jci.org/articles/view/118926>.
- Pidala, J., Tomblyn, M., Nishihori, T., Field, T., Ayala, E., Perkins, J., Fernandez, H., Locke, F., Perez, L., Ochoa, J.L., Alsina, M. & Anasetti, C. (2011) Sirolimus demonstrates activity in the primary therapy of acute graft-versus-host disease without systemic glucocorticoids. *Haematologica*, 96, 1351–1356 Available at: <http://www.haematologica.org/cgi/doi/10.3324/haematol.2011.041236>.
- Piérard, G.E., Hermanns-Lê, T., Paquet, P., Rousseau, A.F., Delvenne, P. & Piérard-Franchimont, C. (2013) Toxic Epidermal Necrolysis and Graft-versus-Host Reaction: Revisiting a Puzzling Similarity. *ISRN Dermatology*, 2013, 651590.
- Piper, K.P., Horlock, C., Curnow, S.J., Arrazi, J., Nicholls, S., Mahendra, P., Craddock, C. & Moss, P.A.H. (2007) CXCL10-CXCR3 interactions play an important role in the pathogenesis of acute graft-versus-host disease in the skin following allogeneic stem-cell transplantation. *Blood*, 110, 3827–3832 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=17766680&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Przepiorka, D., Weisdorf, D., Martin, P., Klingemann, H.G., Beatty, P., Hows, J. & Thomas, E.D. (1995) 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. 15, 825–828 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=7581076&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Quijano, L.M.T., Calfat, G.J. & Molina, R.R. (2001) Poiquiloderma vascular atrófica. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, 9, 563–566 Available at: <https://revista.asocolderma.org.co/index.php/asocolderma/article/view/839>.
- Ram, R. & Storb, R. (2013) Pharmacologic prophylaxis regimens for acute graft-versus-host disease: past, present and future. *Leukemia & lymphoma*, 54, 1591–1601 Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10428194.2012.762978>.

- Ringden, O., Brazauskas, R., Wang, Z., Ahmed, I., Atsuta, Y., Buchbinder, D., Burns, L.J., Cahn, J.-Y., Duncan, C., Hale, G.A., Halter, J., Hayashi, R.J., Hsu, J.W., Jacobsohn, D.A., Kamble, R.T., Kamani, N.R., Kasow, K.A., Khera, N., Lazarus, H.M., Loren, A.W., et al (2014) Second solid cancers after allogeneic hematopoietic cell transplantation using reduced-intensity conditioning. *Biology of blood and marrow transplantation*, 20, 1777–1784 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=25042734&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Rizzo, J.D., Curtis, R.E., Socié, G., Sobocinski, K.A., Gilbert, E., Landgren, O., Travis, L.B., Travis, W.D., Flowers, M.E.D., Friedman, D.L., Horowitz, M.M., Wingard, J.R. & Deeg, H.J. (2009) Solid cancers after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 113, 1175–1183 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2635083/>.
- Rodgers, C.J., Burge, S., Scarisbrick, J. & Peniket, A. (2012) More than skin deep? Emerging therapies for chronic cutaneous GVHD. 48, 323–337 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/bmt.2012.96>.
- Romagosa, R., Kapoor, S., Sanders, J. & Berman, B. (2001) Inpatient adverse cutaneous drug eruptions and eosinophilia. *Archives of dermatology*, 137, 511–2.
- Ross, W.A., Ghosh, S., Dekovich, A.A., Liu, S., Ayers, G.D., Cleary, K.R., Lee, J.H. & Couriel, D. (2008) Endoscopic Biopsy Diagnosis of Acute Gastrointestinal Graft-Versus-Host Disease: Rectosigmoid Biopsies Are More Sensitive Than Upper Gastrointestinal Biopsies. *The American Journal of Gastroenterology*, 103, 982–989 Available at: <http://www.nature.com/doifinder/10.1111/j.1572-0241.2007.01639.x>.
- Rowbottom, A.W., Norton, J., Riches, P.G., Hobbs, J.R., Powles, R.L. & Sloane, J.P. (1993) Cytokine gene expression in skin and lymphoid organs in graft versus host disease. *J Clin Pathol*, 46, 341–345 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC501216>.
- Rowlings, P.A., Przepiorka, D., Klein, J.P., Gale, R.P., Passweg, J.R., Henslee-Downey, P.J., Cahn, J., Calderwood, S., Gratwohl, A., Socié, G., Abecasis, M.M., Sobocinski, K.A., Zhang, M. & Horowitz, M.M. (1997) IBMTR Severity Index for Grading Acute Graft-Versus-Host Disease: Retrospective Comparison with Glucksberg Grade. *British Journal of Haematology*, 97, 855–864 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2141.1997.1112925.x>.
- Ruggeri, A., Labopin, M., Sanz, G., Piemontese, S., Arcese, W., Bacigalupo, A., Blaise, D., Bosi, A., Huang, H., Karakasis, D., Koc, Y., Michallet, M., Picardi, A., Sanz, J., Santarone, S., Sengelov, H., Sierra, J., Vincent, L., Volt, F., Nagler, A., et al (2015) Comparison of outcomes after unrelated cord blood and unmanipulated haploidentical stem cell transplantation in adults with acute leukemia. 29, 1891–1900 Available at: <https://doi.org/10.1038/leu.2015.98>.
- Ruggeri, L., Capanni, M., Urbani, E., Perruccio, K., Shlomchik, W.D., Tosti, A., Posati, S., Rogaia, D., Frassoni, F., Aversa, F., Martelli, M.F. & Velardi, A. (2002) Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*, 295, 2097–2100 Available at: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1068440>.



- Ruutu, T., Gratwohl, A., Witte, T. de, Afanasyev, B., Apperley, J., Bacigalupo, A., Dazzi, F., Dreger, P., Duarte, R., Finke, J., Garderet, L., Greinix, H., Holler, E., Kröger, N., Lawitschka, A., Mohty, M., Nagler, A., Passweg, J., Ringden, O., Socie, G., et al (2014) Prophylaxis and treatment of GVHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standardized practice. *Bone Marrow Transplantation*, 49, 168–173 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=23892326&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Ruzek, M.C., Waire, J.S., Hopkins, D., Lacorcía, G., Sullivan, J., Roberts, B.L., Richards, S.M., Nahill, S.R., Williams, J.M., Scaria, A., Dzuris, J., Shankara, S. & Garman, R.D. (2008) Characterization of in vitro antimurine thymocyte globulin-induced regulatory T cells that inhibit graft-versus-host disease in vivo. *Blood*, 111, 1726–1734 Available at: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2007-08-106526>.
- Saliba, R.M., Lima, M. de, Giralt, S., Andersson, B., Khouri, I.F., Hosing, C., Ghosh, S., Neumann, J., Hsu, Y., Jesus, J.D., Qazilbash, M.H., Champlin, R.E. & Couriel, D.R. (2006) Hyper-acute GVHD: risk factors, outcomes, and clinical implications. *Blood*, 1–9 Available at: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2006-07-034348>.
- Saliba, R.M., Sarantopoulos, S., Kitko, C.L., Pawarode, A., Goldstein, S.C., Magenau, J., Alousi, A.M., Churay, T., Justman, H., Paczesny, S., Reddy, P. & Couriel, D.R. (2017) B-cell activating factor (BAFF) plasma level at the time of chronic GvHD diagnosis is a potential predictor of non-relapse mortality. *Bone Marrow Transplantation*, 52, 1010–1015 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=28481353&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Sanz, J., Cano, I., González-Barberá, E.M., Arango, M., Reyes, J., Montesinos, P., Lorenzo, I., Jarque, I., Martínez, J., López, F., Arilla, M.J., Lancharro, A., Moscardó, F., López-Hontangas, J.L., Salavert, M., Sanz, M.A. & Sanz, G.F. (2015) Bloodstream Infections in Adult Patients Undergoing Cord Blood Transplantation from Unrelated Donors after Myeloablative Conditioning Regimen. *YBBMT*, 21, 755–760 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.12.038>.
- Sanz, J., Montoro, J., Solano, C., Valcárcel, D., Sampol, A., Ferrá, C., Parody, R., Lorenzo, I., Montesinos, P., Ortí, G., Hernández-Boluda, J.C., Balaguer-Roselló, A., Guerreiro, M., Carretero, C., Sanz, G.F., Sanz, M.A. & Piñana, J.L. (2020) Prospective Randomized Study Comparing Myeloablative Unrelated Umbilical Cord Blood Transplantation versus HLA-Haploidentical Related Stem Cell Transplantation for Adults with Hematologic Malignancies. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 26, 358–366.
- Sarantopoulos, S., Stevenson, K.E., Kim, H.T., Bhuiya, N.S., Cutler, C.S., Soiffer, R.J., Antin, J.H. & Ritz, J. (2007) High levels of B-cell activating factor in patients with active chronic graft-versus-host disease. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 13, 6107–6114 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=17947475&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Sarantopoulos, S., Stevenson, K.E., Kim, H.T., Cutler, C.S., Bhuiya, N.S., Schowalter, M., Ho, V.T., Alyea, E.P., Koreth, J., Blazar, B.R., Soiffer, R.J., Antin, J.H. & Ritz, J.

- (2009) Altered B-cell homeostasis and excess BAFF in human chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 113, 3865–3874 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=19168788&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Schaffer, J.V., McNiff, J.M., Seropian, S., Cooper, D.L. & Bologna, J.L. (2005) Lichen sclerosus and eosinophilic fasciitis as manifestations of chronic graft-versus-host disease: Expanding the sclerodermoid spectrum. 53, 591–601 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962205019894>.
- Schnitzler, M., Hasskarl, J., Egger, M., Bertz, H. & Finke, J. (2009) Successful Treatment of Severe Acute Intestinal Graft-versus-Host Resistant to Systemic and Topical Steroids with Alemtuzumab. *Biology of blood and marrow transplantation*, 15, 910–918 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.04.002>.
- Schubert, M.M. & Sullivan, K.M. (1990) Recognition, incidence, and management of oral graft-versus-host disease. *NCI monographs: a publication of the National Cancer Institute*, 135–143 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=2188151&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Schwab, L., Goroncy, L., Palaniyandi, S., Gautam, S., Triantafyllopoulou, A., Mocsai, A., Reichardt, W., Karlsson, F.J., Radhakrishnan, S.V., Hanke, K., Schmitt-Graeff, A., Freudenberg, M., Loewenich, F.D. von, Wolf, P., Leonhardt, F., Baxan, N., Pfeifer, D., Schmah, O., nle, A.S. ouml, Martin, S.F., et al (2019) Neutrophil granulocytes recruited upon translocation of intestinal bacteria enhance graft-versus-host disease via tissue damage. *Nature medicine*, 1–10 Available at: <https://www.nature.com/articles/nm.3517>.
- Seidel, C., Ringden, O. & Remberger, M. (2003) Increased levels of syndecan-1 in serum during acute graft-versus-host disease. *Transplantation*, 76, 423–426 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=12883204&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- She, K., Gilman, A.L., Aslanian, S., Shimizu, H., Krailo, M., Chen, Z., Reid, G.S., Wall, D., Goldman, F. & Schultz, K.R. (2007) Altered Toll-like receptor 9 responses in circulating B cells at the onset of extensive chronic graft-versus-host disease. *YBBMT*, 13, 386–397 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=17382246&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Shier, L.R., Schultz, K.R., Imren, S., Regan, J., Issekutz, A., Sadek, I., Gilman, A., Luo, Z., Panzarella, T., Eaves, C.J. & Couban, S. (2004) Differential effects of granulocyte colony-stimulating factor on marrow- and blood-derived hematopoietic and immune cell populations in healthy human donors. *Biology of blood and marrow transplantation*, 10, 624–634 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879104002708>.
- Shulman, H.M., Cardona, D.M., Greenson, J.K., Hingorani, S., Horn, T., Huber, E., Kreft, A., Longerich, T., Morton, T., Myerson, D., Prieto, V.G., Rosenberg, A., Treister, N., Washington, K., Ziemer, M., Pavletic, S.Z., Lee, S.J., Flowers, M.E.D., Schultz, K.R., Jagasia, M., et al (2015) NIH Consensus Development Project on

- Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: II. The 2014 Pathology Working Group Report. 21, 589–603 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S108387911401475X>.
- Socié, G., Mary, J.-Y., Lemann, M., Daneshpouy, M., Guardiola, P., Meignin, V., Ades, L., Esperou, H., Ribaud, P., Devergie, A., Gluckman, E., Ameisen, J.-C. & Janin, A. (2004) Prognostic value of apoptotic cells and infiltrating neutrophils in graft-versus-host disease of the gastrointestinal tract in humans: TNF and Fas expression. *Blood*, 103, 50–57 Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/103/1/50/17603/Prognostic-value-of-apoptotic-cells-and>.
- Solán, L., Carbonell, D., Muñoz, P., Dorado, N., Landete, E., Chicano-Lavilla, M., Anguita, J., Gayoso, J., Kwon, M., Díez-Martín, J.L., Martínez-Laperche, C. & Buño, I. (2021) Elafin as a Predictive Biomarker of Acute Skin Graft-Versus-Host Disease After Haploidentical Stem Cell Transplantation Using Post-Transplant High-Dose Cyclophosphamide. *Frontiers in Immunology*, 12, 516078.
- Song, J., Xiao, L., Du, G., Gao, Y., Chen, W., Yang, S., Fan, W. & Shi, B. (2016) The role of regulatory B cells (Bregs) in the Tregs-amplifying effect of Sirolimus. *International immunopharmacology*, 38, 90–96 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576916302016>.
- Spitzer, T.R. (2001) Engraftment syndrome following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 27, 893–898 Available at: <http://www.nature.com/articles/1703015>.
- Storek, J., Dawson, M.A., Storer, B., Stevens-Ayers, T., Maloney, D.G., Marr, K.A., Witherspoon, R.P., Bensinger, W., Flowers, M.E., Martin, P., Storb, R., Appelbaum, F.R. & Boeckh, M. (2001a) Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood*, 97, 3380–9.
- Storek, J., Geddes, M., Khan, F., Huard, B., Helg, C., Chalandon, Y., Passweg, J. & Roosnek, E. (2008) Reconstitution of the immune system after hematopoietic stem cell transplantation in humans. *Seminars in Immunopathology*, 30, 425.
- Storek, J., Joseph, A., Dawson, M.A., Douek, D.C., Storer, B. & Maloney, D.G. (2002) Factors influencing T-lymphopoiesis after allogeneic hematopoietic cell transplantation<sup>1</sup>. *Transplantation*, 73, 1154–1158.
- Storek, J., Wells, D., Dawson, M.A., Storer, B. & Maloney, D.G. (2001b) Factors influencing B lymphopoiesis after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 98, 489–491.
- Storek, J., Witherspoon, R.P., Webb, D. & Storb, R. (1996) Lack of B cell precursors in marrow transplant recipients with chronic graft-versus-host disease. *American Journal of Hematology*, 52, 82–89.
- Sudres, M., Norol, F., Trenado, A., Gregoire, S., Charlotte, F., Levacher, B., Lataillade, J.J., Bourin, P., Holy, X., Vernant, J.P., Klatzmann, D. & Cohen, J.L. (2006) Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Suppress Lymphocyte Proliferation In Vitro but Fail to Prevent Graft-versus-Host Disease in Mice. *The Journal of Immunology*, 176,

- 7761–7767 Available at:  
<http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.176.12.7761>.
- Sullivan, K.M., Deeg, H.J., Sanders, J., Klosterman, A., Amos, D., Shulman, H., Sale, G., Martin, P., Witherspoon, R. & Appelbaum, F. (1986) Hyperacute graft-v-host disease in patients not given immunosuppression after allogeneic marrow transplantation. *Blood*, 67, 1172 Available at:  
<http://www.bloodjournal.org/content/67/4/1172.abstract>.
- Sultan, M., Ramprasad, J., Jensen, M.K., Margolis, D. & Werlin, S. (2012) Endoscopic Diagnosis of Pediatric Acute Gastrointestinal Graft-Versus-Host Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55, Available at:  
[https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/2012/10000/Endoscopic\\_Diagnosis\\_of\\_Pediatric\\_Acute.14.aspx](https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/2012/10000/Endoscopic_Diagnosis_of_Pediatric_Acute.14.aspx).
- Sung, A.D. & Chao, N.J. (2013) Concise review: acute graft-versus-host disease: immunobiology, prevention, and treatment. *Stem cells translational medicine*, 2, 25–32 Available at:  
<http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=23283494&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Sureda, A., Bader, P., Cesaro, S., Dreger, P., Duarte, R.F., Dufour, C., Falkenburg, J.H.F., Farge-Bancel, D., Gennery, A., ger, N.K. ouml, Lanza, F., Marsh, J.C., Nagler, A., Peters, C., Velardi, A., Mohty, M. & Madrigal, A. (2015) Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Nature Publishing Group*, 50, 1037–1056 Available at:  
<http://dx.doi.org/10.1038/bmt.2015.6>.
- Svensson, C.K., Cowen, E.W. & Gaspari, A.A. (2001) Cutaneous drug reactions. *Pharmacological Reviews*, 53, 357–379 Available at:  
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=0034843305&origin=inward>.
- Takata, M., Imai, T. & Hirone, T. (1993) Immunoelectron microscopy of acute graft versus host disease of the skin after allogeneic bone marrow transplantation. *Journal of clinical pathology*, 46, 801–805 Available at:  
<http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=7693765&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Talam, C., Urbano-Ispizua, A., Martino, R., Batlle, M., Fernández-Avilés, F., Herrera, C., Pérez-Simón, J.A., Gaya, A., Aymerich, M., Pétriz, J., Marín, P., Sierra, J. & Montserrat, E. (2006) G-CSF increases the number of peripheral blood dendritic cells CD16+ and modifies the expression of the costimulatory molecule CD86+. *Bone Marrow Transplantation*, 37, 873–879 Available at:  
<http://www.nature.com/articles/1705345>.
- Tang, B., Li, X., Liu, Y., Chen, X., Li, X., Chu, Y., Zhu, H., Liu, W., Xu, F., Zhou, F. & Zhang, Y. (2018) The Therapeutic Effect of ICAM-1-Overexpressing Mesenchymal Stem Cells on Acute Graft-Versus-Host Disease. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 46, 2624–2635 Available at:  
<https://www.karger.com/Article/FullText/489689>.

- Taylor, P.A., Lees, C.J. & Blazar, B.R. (2002) The infusion of ex vivo activated and expanded CD4+CD25+ immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality. *Blood*, 99, 3493–3499.
- Thomas, E.D., Storb, R., Clift, R.A., Fefer, A., Johnson, L., Neiman, P.E., Lerner, K.G., Glucksberg, H. & Buckner, C.D. (1975) Bone-marrow transplantation (second of two parts). *New England Journal of Medicine*, 292, 895–902 Available at: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM197504242921706>.
- Thomson, B.G., Robertson, K.A., Gowan, D., Heilman, D., Broxmeyer, H.E., Emanuel, D., Kotylo, P., Brahmi, Z. & Smith, F.O. (2000) Analysis of engraftment, graft-versus-host disease, and immune recovery following unrelated donor cord blood transplantation. *Blood*, 96, 2703–11.
- Tyndall, A. & Dazzi, F. (2008) Chronic GVHD as an autoimmune disease. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 21, 281–289.
- Valks, Fernandez-Herrera, Bartolomé, F., F., Daudén & García-Díez (2001) Late Appearance of Acute Graft-vs-Host Disease After Suspending or Tapering Immunosuppressive Drugs. *Archives of Dermatology*, 137, 75–76.
- Vargas-Díez, E., García-Díez, A., Marín, A. & Fernández-Herrera, J. (2005) Life-threatening graft-vs-host disease. *Clinics in Dermatology*, 23, 285–300 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0738081X04001038>.
- Vogelsang, G.B. & Pavletic, S.Z. (2009) Chronic Graft Versus Host Disease: Interdisciplinary Management Cambridge University Press.
- Volc-Platzer, B., Rappersberger, K., Mosberger, I., Hinterberger, W., Emminger-Schmidmeier, W., Radaszkiewicz, T. & Wolff, K. (1988) Sequential Immunohistologic Analysis of the Skin Following Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *Journal of Investigative Dermatology*, 91, 162–168.
- Wagner, J.E., Barker, J.N., DeFor, T.E., Baker, K.S., Blazar, B.R., Eide, C., Goldman, A., Kersey, J., Krivit, W., MacMillan, M.L., Orchard, P.J., Peters, C., Weisdorf, D.J., Ramsay, N.K.C. & Davies, S.M. (2002) Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. 100, 1611–1618 Available at: <https://doi.org/10.1182/blood-2002-01-0294>.
- Weaver, J. & Bergfeld, W.F. (2010) Quantitative analysis of eosinophils in acute graft-versus-host disease compared with drug hypersensitivity reactions. *The American Journal of Dermatopathology*, 32, 31–34 Available at: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00000372-201002000-00006>.
- Wegner, J., Weidenthaler-Barth, B., Engelbert, J., Knothe, M., Braun, C., Helbig, D., Sacher, C., Kreft, A., Wagner, E.M., Ziemer, M., Meyer, R.G. & Stebut, E. (2021) Immunohistochemical markers for histopathological diagnosis and differentiation of acute cutaneous graft-versus-host disease. *Experimental Dermatology*, 30, 1814–1819.



- Weisdorf, D. (2008) Graft vs. host disease: pathology, prophylaxis and therapy: GVHD overview. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 21, 99–100 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S152169260800025X>.
- Weisdorf, D., Hakke, R., Blazar, B., Miller, W., McGlave, P., Ramsay, N., Kersey, J. & Filipovich, A. (1991) Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation. *Transplantation*, 51, 1197–1203 Available at: <http://journals.lww.com/00007890-199106000-00010>.
- Weissinger, E.M., Schiffer, E., Hertenstein, B., Ferrara, J.L., Holler, E., Stadler, M., Kolb, H.-J., Zander, A., Zürlbig, P., Kellmann, M. & Ganser, A. (2007) Proteomic patterns predict acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 109, 5511–5519 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=17339419&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Welniak, L.A., Blazar, B.R. & Murphy, W.J. (2007) Immunobiology of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 25, 139–170 Available at: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141606>.
- Whangbo, J.S., Antin, J.H. & Koreth, J. (2020) The role of regulatory T cells in graft-versus-host disease management. *Expert review of hematology*, 13, 141–154 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17474086.2020.1709436>.
- Wingard, J.R., Majhail, N.S., Brazauskas, R., Wang, Z., Sobocinski, K.A., Jacobsohn, D., Sorrow, M.L., Horowitz, M.M., Bolwell, B., Rizzo, J.D. & Socié, G. (2011) Long-Term Survival and Late Deaths After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Journal of Clinical Oncology*, 29, 2230–2239 Available at: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2010.33.7212>.
- Wolf, D., Lilienfeld-Toal, M. von, Wolf, A.M., Schleuning, M., Bergwelt-Baildon, M. von, Held, S.A.E. & Brossart, P. (2012) Novel treatment concepts for graft-versus-host disease. *Blood*, 119, 16–25 Available at: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2011-08-339465>.
- Wolff, D., Greinix, H., Lee, S.J., Gooley, T., Paczesny, S., Pavletic, S., Hakim, F., Malard, F., Jagasia, M., Lawitschka, A., Hansen, J.A., Pulanic, D., Holler, E., Dickinson, A., Weissinger, E., Edinger, M., Sarantopoulos, S. & Schultz, K.R. (2018) Biomarkers in chronic graft-versus-host disease: quo vadis? *Nature Publishing Group*, 53, 1–6 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41409-018-0092-x>.
- Wolff, D., Schleuning, M., Harsdorf, S. von, Bacher, U., Gerbitz, A., Stadler, M., Ayuk, F., Kiani, A., Schwerdtfeger, R., Vogelsang, G.B., Kobbe, G., Gramatzki, M., Lawitschka, A., Mohty, M., Pavletic, S.Z., Greinix, H. & Holler, E. (2011) Consensus Conference on Clinical Practice in Chronic GVHD: Second-Line Treatment of Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 17, 1–17.
- Xiao, B., Wang, Y., Li, W., Baker, M., Guo, J., Corbet, K., Tsalik, E.L., Li, Q.-J., Palmer, S.M., Woods, C.W., Li, Z., Chao, N.J. & He, Y.-W. (2013) Plasma microRNA signature as a noninvasive biomarker for acute graft-versus-host disease. *Blood*, 122, 3365–3375 Available at:

- <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=24041574&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Yoshikawa, T., Ihira, M., Ohashi, M., Suga, S., Asano, Y., Miyazaki, H., Hirano, M., Suzuki, K., Matsunaga, K., Horibe, K., Kojima, S., Kudo, K., Kato, K., Matsuyama, T. & Nishiyama, Y. (2001) Correlation between HHV-6 infection and skin exantema after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 28, 77–81 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=11498748&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- Yu, J., Storer, B.E., Kushekhar, K., Zaid, M.A., Zhang, Q., Gafken, P.R., Ogata, Y., Martin, P.J., Flowers, M.E., Hansen, J.A., Arora, M., Cutler, C., Jagasia, M., Pidala, J., Hamilton, B.K., Chen, G.L., Pusic, I., Lee, S.J. & Paczesny, S. (2016) Biomarker Panel for Chronic Graft-Versus-Host Disease. 34, 2583–2590 Available at: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2015.65.9615>.
- Zeiser, R. & Blazar, B.R. (2017a) Acute Graft-versus-Host Disease — Biologic Process, Prevention, and Therapy. 377, 2167–2179 Available at: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1609337>.
- Zeiser, R. & Blazar, B.R. (2017b) Pathophysiology of Chronic Graft-versus-Host Disease and Therapeutic Targets. *New England Journal of Medicine*, 377, 2565–2579 Available at: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1703472>.
- Zeiser, R., Burchert, A., Lengerke, C., Verbeek, M., Maas-Bauer, K., Metzelder, S.K., Spoerl, S., Ditschkowski, M., Ecsedi, M., Sockel, K., Ayuk, F., Ajib, S., Fontbrune, F.S. de, Na, I.-K., Penter, L., Holtick, U., Wolf, D., Schuler, E., Meyer, E., Apostolova, P., et al (2015) Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey. *Leukemia*, 29, 2062–2068 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/leu.2015.212>.
- Zewde, M.G., Morales, G., Gandhi, I., Özbek, U., Aguayo-Hiraldo, P., Ayuk, F., Baez, J., Chanswangphuwana, C., Choe, H., DeFilipp, Z., Etra, A., Grupp, S., Hexner, E.O., Hogan, W., Javorniczky, N.R., Kasikis, S., Kitko, C.L., Kowalyk, S., Meedt, E., Merli, P., et al (2021) Evaluation of Elafin as a Prognostic Biomarker in Acute Graft-versus-Host Disease. *Transplantation and Cellular Therapy*, 27, 988.e1-988.e7.
- Zhang, C., Todorov, I., Zhang, Z., Liu, Y., Kandeel, F., Forman, S., Strober, S. & Zeng, D. (2006) Donor CD4+ T and B cells in transplants induce chronic graft-versus-host disease with autoimmune manifestations. *Blood*, 107, 2993–3001 Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/107/7/2993/132067/Donor-CD4-T-and-B-cells-in-transplants-induce>.
- Zhou, L., Askew, D., Wu, C. & Gilliam, A.C. (2007) Cutaneous gene expression by DNA microarray in murine sclerodermatous graft-versus-host disease, a model for human scleroderma. *The Journal of investigative dermatology*, 127, 281–292 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15332565>.
- Zhou, Y., Barnett, M.J. & Rivers, J.K. (2000) Clinical Significance of Skin Biopsies in the Diagnosis and Management of Graft-vs-Host Disease in Early Postallogeneic Bone Marrow Transplantation. *Archives of Dermatology*, 136, 717–721.

Zorn, E., Kim, H.T., Lee, S.J., Floyd, B.H., Litsa, D., Arumugarajah, S., Bellucci, R., Alyea, E.P., Antin, J.H., Soiffer, R.J. & Ritz, J. (2005) Reduced frequency of FOXP3+ CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 106, 2903–2911 Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=15972448&retmode=ref&cmd=prlinks>.



## **9.DOCUMENTOS ANEXOS**



## Anexo 1. Informe del CEIB del HUIP La Fe

**DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA**

Don Serafín Rodríguez Capellán, Secretario del Comité Ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe,

**CERTIFICA**

Que este Comité ha evaluado en su sesión de fecha **15 de diciembre de 2015**, el Proyecto de Investigación titulado **"CARACTERIZACIÓN CLÍNICA, HISTOLÓGICA Y BIOLÓGICA DE LA ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED CUTÁNEA AGUDA Y CRÓNICA"**, con nº de registro **2015/0369**.

Que dicho proyecto se ajusta a las normativas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos y es viable en cuanto al planteamiento científico, objetivos, material y métodos, etc, descritos en la solicitud, así como la Hoja de Información al Paciente y el Consentimiento Informado.

En consecuencia este Comité acuerda emitir **INFORME FAVORABLE** de dicho Proyecto de Investigación que será realizado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe por la solicitante **Dña. PAULA MOLES POVEDA** como Investigador Principal, siendo el Investigador Responsable el Dr. MIGUEL ÁNGEL SANZ ALONSO y el Tutor el Dr. JAIME SANZ CABALLER.

Miembros del CEIB:

**Presidente:**

Dr. JOAN SALOM SANVALERO (Unidad de Circulación Cerebral Experimental)

**Vicepresidente:**

Dr. JOSE VICENTE CERVERA ZAMORA (Hematología)

**Secretario:**

D. SERAFIN RODRIGUEZ CAPELLAN (Asesor jurídico)

**Miembros:**

Dr. SALVADOR ALIÑO PELLICER (Catedrático Farmacólogo Clínico)

Dr. LUIS ALMENAR BONET (Cardiología)

Dra. ESTHER ZORIO GRIMA (Cardiología)

Dra. BELEN BELTRAN NICLOS (Medicina Digestiva)

Dra. INMACULADA CALVO PENADES (Reumatología Pediátrica)

Dr. JOSE VICENTE CASTELL RIPOLL (Director de Investigación)

Dra. MARIA JOSE GOMEZ-LECHON MOLINER (Investigadora del Grupo Acreditado en Hepatología Experimental)

Dr. JOSE LOPEZ ALDEGUER (Enfermedades Infecciosas)

Dr. JAVIER PEMAN GARCIA (Investigador del Grupo Acreditado multidisciplinar para el estudio de la Infección Grave)

Dr. ALFREDO PERALES MARIN (Jefe de Servicio - Obstetricia)

Dra. PILAR SAENZ GONZALEZ (Neonatología)

Dr. MELCHOR HOYOS GARCIA ( )

Dra. BEGOÑA POLO MIQUEL (Gastroenterología Pediátrica)

Dr. ISIDRO VITORIA MIÑANA (Pediatria)

Dra. EUGENIA PAREJA IBARS (Unidad de Cirugía y Trasplante Hepático)



**Anexo 2. Consentimiento Informado para pacientes.****HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE**

|                                                                                                                                                            |                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Versión de la HIP: 4                                                                                                                                       | Fecha de la versión: 23/11/2015 |
| Investigador Principal:<br>Miguel Ángel Sanz Alonso. Jaime Sanz Caballer. Servicio de Hematología.                                                         |                                 |
| CENTRO: Hospital Universitari i Politècnic La Fe                                                                                                           |                                 |
| Título del proyecto de investigación: Caracterización clínica, histológica y biológica de la enfermedad de injerto contra huésped cutánea aguda y crónica. |                                 |

**1. INTRODUCCIÓN:**

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico la Fe.

Nuestra intención es tan sólo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportunas.

**2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:**

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

**3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:**

El presente estudio tiene por objetivo caracterizar la enfermedad injerto contra huésped cutánea y estudiarla a cuatro niveles: 1- clínico (forma de afectación de la piel, extensión y gravedad), 2- histológico (estudio microscópico de la piel), 3- biológico (presencia de marcadores en sangre y en piel) 4- ecográfico. Este estudio pretende ampliar nuestro conocimiento sobre la enfermedad injerto contra huésped cutánea con el objetivo de mejorar nuestra capacidad de diagnóstico y tratamiento en estos pacientes, intentando determinar nuevos marcadores que nos ayuden a manejar mejor la enfermedad y ayudar en el descubrimiento de posibles nuevos fármacos.

Se estudiarán todos los pacientes que reciban un trasplante hematológico a lo largo de dos años consecutivos. La duración del presente estudio es de tres años, aunque cada paciente se estudiará durante un periodo de un año (desde antes del trasplante hasta un año después del mismo). Calculamos que el total de pacientes trasplantados será de 120. Asimismo se incluirán 20 pacientes con otras patologías cutáneas similares

## Anexo 2, continuación

pero que no hayan sido trasplantados para poder comparar ambos grupos (controles). Las visitas de los pacientes trasplantados se realizarán en la sala de hospitalización de Hematología y en las consultas externas de Dermatología según la situación de cada paciente. Se tomarán muestras de sangre y de piel para su diagnóstico y estudio. Las muestras de sangre se extraerán, coincidiendo con el resto de analíticas rutinarias, previamente al trasplante, semanalmente durante el primer mes, y los días 100, 180 y 365 tras el trasplante. Se tomará una muestra de piel bajo anestesia local en caso de presentar afectación de la piel, así como una ecografía cutánea.

El sujeto que participe en el estudio tiene la obligación de notificar cualquier acontecimiento adverso relacionado con el procedimiento. Este estudio no modifica de ninguna manera el tratamiento del sujeto.

### **4. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:**

De la participación en el estudio el sujeto no obtendrá ningún beneficio directo. Los beneficios esperados para el sujeto y para la sociedad se obtendrán tras la finalización del estudio para futuros pacientes que desarrollen la enfermedad.

### **5. TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS:**

Este estudio no modifica de ninguna manera el tratamiento del sujeto que participe en el estudio.

### **6. Nº DE URGENCIA PARA PROBLEMAS DEL ESTUDIO:**

En caso de que desee formular preguntas acerca del estudio o daños relacionados con el mismo, contactar con el médico del estudio Dra. Molés en el número de teléfono 961244286.

### **7. CONFIDENCIALIDAD**

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes, se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio o colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

Sólo se tramitarán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio, que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc... En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio, colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité Ético de Investigación Biomédica y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y



**Anexo 2, continuación**

procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente. El acceso a su historia clínica ha de ser sólo en lo relativo al estudio. El responsable del registro de los datos en la Agencia Española de Protección de Datos es la Conselleria de Sanidad.

Las muestras biológicas (sangre y piel) serán criopreservadas y custodiadas por el Biobanco de la Fe durante aproximadamente un año. Posteriormente se recuperarán y se procederá a su estudio.

**8. COMPENSACIÓN ECONÓMICA:**

El promotor del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo, por lo que su participación en éste no le supondrá ningún gasto. Usted no recibirá ninguna compensación económica por la participación en este estudio.

**9. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:**

Cualquier nueva información referente a los fármacos utilizados en el estudio que se descubra durante su participación y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, no se añadirá ningún dato nuevo a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente obtenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor o los investigadores del mismo lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la mediación en estudio o porque consideren que usted no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo por el que se ha decidido su retirada del estudio.

El promotor podrá suspender el estudio siempre y cuando sea por alguno de los supuestos contemplados en la legislación vigente.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto. Cuando acabe su participación recibirá el mejor tratamiento disponible y que su médico considere el más adecuado para su enfermedad.





**Anexo 3. Consentimiento Informado para pacientes del grupo control.****HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE  
(GRUPO DE CONTROL)**

|                                                                                                                                                            |                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Versión de la HIP: 1                                                                                                                                       | Fecha de la versión: 23/11/2015 |
| Investigador Principal:<br>Miguel Ángel Sanz Alonso. Jaime Sanz Caballer. Servicio de Hematología.                                                         |                                 |
| CENTRO: Hospital Universitari i Politècnic La Fe                                                                                                           |                                 |
| Título del proyecto de investigación: Caracterización clínica, histológica y biológica de la enfermedad de injerto contra huésped cutánea aguda y crónica. |                                 |

**1. INTRODUCCIÓN:**

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar como sujeto control. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico la Fe.

Nuestra intención es tan sólo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportunas.

**2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:**

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

**3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:**

El presente estudio, del que Ud. participa como sujeto control, tiene por objetivo caracterizar la enfermedad injerto contra huésped cutánea que es una de las complicaciones más importantes que sufren los pacientes que reciben un trasplante de progenitores hematopoyéticos. Para ello, se estudiará a cuatro niveles: 1- clínico (forma de afectación de la piel, extensión y gravedad), 2- histológico (estudio microscópico de la piel), 3- biológico (presencia de marcadores en sangre y en piel) 4- ecográfico. Este estudio pretende ampliar nuestro conocimiento sobre la enfermedad injerto contra huésped cutánea con el objetivo de mejorar nuestra capacidad de diagnóstico y tratamiento en estos pacientes, intentando determinar nuevos marcadores que nos ayuden a manejar mejor la enfermedad y ayudar en el descubrimiento de posibles nuevos fármacos.

Se estudiarán todos los pacientes que reciban un trasplante hematológico a lo largo de

**Anexo 3, continuación**

dos años consecutivos. La duración del presente estudio es de tres años, aunque cada paciente se estudiará durante un periodo de un año (desde antes del trasplante hasta un año después del mismo). Calculamos que el total de pacientes trasplantados será de 120. Asimismo se incluirán 20 pacientes en el grupo control. Este grupo estará conformado por 2 subgrupos. **Subgrupo 1:** 10 pacientes con clínica cutánea similar a la enfermedad de injerto contra huésped (5 como controles de la forma aguda y 5 de la forma crónica) pero que no hayan recibido un trasplante hematológico. **Subgrupo 2:** 10 pacientes trasplantados que no hayan desarrollado clínica cutánea (5 en el día 100 post-trasplante como controles de enfermedad aguda y 5 en el día 180 post-trasplante como controles de enfermedad crónica).

A los pacientes del subgrupo 1 se les extraerá una única analítica antes del tratamiento de su patología cutánea y se realizará una biopsia cutánea, ambas coincidiendo con las de rutina. Se destinará 4 mm de la biopsia de piel y una fracción de la muestra de sangre para el presente estudio.

A los pacientes del subgrupo 2 se les realizará una biopsia de piel sana mediante un punch de 4 mm. Ésta es la única prueba que se realizará de manera extraordinaria por su participación en el estudio. El resto de pruebas se realizan de manera rutinaria. Los riesgos derivados de dichas pruebas son mínimos, limitándose a posible dolor, sangrado, hematoma, infección local y cicatriz en la zona de la biopsia.

El sujeto que participe en el estudio tiene la obligación de notificar cualquier acontecimiento adverso relacionado con el procedimiento. Este estudio no modifica de ninguna manera el tratamiento del sujeto.

**4. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:**

De la participación en el estudio el sujeto no obtendrá ningún beneficio directo. Los beneficios esperados para el sujeto y para la sociedad se obtendrán tras la finalización del estudio para futuros pacientes que desarrollen la enfermedad.

**5. TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS:**

Este estudio no modifica de ninguna manera el tratamiento del sujeto que participe en el estudio.

**6. N° DE URGENCIA PARA PROBLEMAS DEL ESTUDIO:**

En caso de que desee formular preguntas acerca del estudio o daños relacionados con el mismo, contactar con el médico del estudio Dra. Molés en el número de teléfono 961244286.

**7. CONFIDENCIALIDAD**

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes, se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio o colaboradores podrán relacionar dichos datos

**Anexo 3, continuación**

con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

Sólo se tramitarán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio, que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc... En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio, colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité Ético de Investigación Biomédica y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente. El acceso a su historia clínica ha de ser sólo en lo relativo al estudio. El responsable del registro de los datos en la Agencia Española de Protección de Datos es la Conselleria de Sanidad.

Las muestras biológicas (sangre y piel) serán criopreservadas y custodiadas por el Biobanco de la Fe durante aproximadamente un año. Posteriormente se recuperarán y se procederá a su estudio.

**8. COMPENSACIÓN ECONÓMICA:**

El promotor del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo, por lo que su participación en éste no le supondrá ningún gasto. Usted no recibirá ninguna compensación económica por la participación en este estudio.

**9. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:**

Cualquier nueva información referente a los fármacos utilizados en el estudio que se descubra durante su participación y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, no se añadirá ningún dato nuevo a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente obtenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor o los investigadores del mismo lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la mediación en estudio o porque consideren que usted no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo por el que se ha decidido su retirada del estudio.

El promotor podrá suspender el estudio siempre y cuando sea por alguno de los supuestos contemplados en la legislación vigente.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto. Cuando acabe su participación recibirá el mejor tratamiento disponible y que su médico considere el más adecuado para su enfermedad.





#### **Anexo 4. Protocolo del inmunoensayo ELISA para detección de elafina plasmática.**

Para la realización del inmunoensayo se utilizó el kit DuoSet® ELISA Human Trappin-2/Elafin de R&D Systems (Abingdon, UK). El protocolo seguido se describe a continuación.

**Tapizado:** se añadieron 100µL de una dilución del anticuerpo de captura específico para elafina con PBS (a la concentración establecida por el fabricante) en los pocillos de una microplaca de ELISA de 96 pocillos previamente identificada (R&D systems; Minneapolis, EEUU). Se incubaron las microplacas durante 12 a 18 horas a TA. A continuación se lavaron los pocillos con 400µL de la solución de lavado 3 veces.

**Bloqueo:** se bloqueó el anticuerpo de captura añadiendo 300µL de Reagent Diluent incubando la microplaca durante 1 hora a TA. A continuación se lavaron los pocillos con 400µL de la solución de lavado 3 veces.

**Adición de las muestras y curva estándar:** se agregaron 100µL de las muestras de plasma diluidas con Reagent Diluent, por duplicado. Como control positivo se preparó y agregó una curva estándar decreciente de elafina con las siguientes concentraciones: 2000pg/ml, 1000pg/ml, 500pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,3 pg/ml y 0 pg/ml (Reagent Diluent). Se incubaron las microplacas durante 2 horas a TA. A continuación se lavaron los pocillos con 400µL de la solución de lavado 3 veces.

**Adición del anticuerpo de detección:** se agregaron 100µL de una dilución del anticuerpo de detección con Reagent Diluent (como establecido por el fabricante). Este anticuerpo es específico para elafina y está marcado biotina. Se incubaron las microplacas durante 2 horas a TA. A continuación se lavaron los pocillos con 400µL de la solución de lavado 3 veces.

**Adición estreptavidina-peroxidasa:** Se agregaron 100µL de una dilución de estreptavidina-peroxidasa que se incubó en la oscuridad durante 20 minutos a TA. La estreptavidina se une a la biotina (

Figura 4.3). A continuación se lavaron los pocillos con 400µL de la solución de lavado 3 veces.

**Adición del sustrato:** se añadieron 100µL del sustrato de la peroxidasa (mezcla 1:1 de peróxido de hidrógeno y tetrametilbencidina), incubando las microplacas durante 20 minutos en la oscuridad a TA.

**Lectura de la densidad óptica:** se añadieron 50µL de la solución stop (ácido sulfúrico) para detener la reacción e inmediatamente se determinó la absorbancia de cada pocillo utilizando un lector de microplacas a 450nm.

## Anexo 5. Publicaciones derivadas de este proyecto.

1. **Sclerodermatous Chronic Graft-versus-Host Disease Treated with Imatinib: A Dermatological Perspective.** Molés-Poveda P, Montesinos P, Sanz-Caballer J, de Unamuno B, Piñana JL, Sahuquillo A, Botella-Estrada R. *Actas Dermosifiliogr.* 2018 Apr;109(3):241-247.
2. **Rehabilitation Interventions in the Multidisciplinary Management of Patients with Sclerotic Graft-Versus- Host Disease of the Skin and Fascia.** Paula Molés-Poveda, Leora E. Comis, Galen O. Joe, Sandra A. Mitchell, Dominique C. Pichard, Rachel K. Rosenstein, Beth Solomon, Steven Z. Pavletic, Edward W. Cowen. *Archives-pmr.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2020.10.141>.
3. **Ruxolitinib in Refractory Acute and Chronic Graft-versus-Host Disease: a Multicenter Survey Study.** Virginia Escamilla Gómez, Valentín García-Gutiérrez, Lucía López Corral, Irene García Cadenas, Ariadna Pérez Martínez, Francisco J. Márquez Malaver, Teresa Caballero-Velázquez, Pedro A. González Sierra, María C. Viguria Alegría, Ingrid Parra Salinas, Cristina Calderón Cabrera, Marta González Vicent, Nancy Rodríguez Torres, Rocío Parody Porras, Christelle Ferra Coll, Guillermo Orti, David Valcárcel Ferreiras, Rafael De la Cámara LLanzá, Paula Molés, Kyra Velázquez-Kennedy, María João Mende, Dolores Caballero Barrigón, Estefanía Pérez, Rodrigo Martino Bofarull, Silvanna Saavedra Gerosa, Jorge Sierra, Marc Poch, María T. Zudaire Ripa, Miguel A. Díaz Pérez, Blanca Molina Angulo, Isabel Sánchez Ortega, Jaime Sanz Caballer, Juan Montoro Gómez, Ildefonso Espigado Tocino, José A Pérez-Simón. *Bone Marrow Transplantation.* 2020; 55:641–648.
4. **Treatment of Steroid-Refractory Chronic Graft-versus-Host Disease with Imatinib: Real-Life Experience of the Spanish Group of Hematopoietic Transplantation (GETH).** Ingrid Parra Salinas, Aranzazu Bermudez, Lucia López Corral, Oriana Lopez Godino, Paula Móles-Poveda, Guillermo Martín, Lisette Costilla Barriga, Christelle Ferrá Coll, Francisco Márquez-Malaver, Guillermo Ortí, María Teresa Zudaire Ripa, Jose Rifon, Carmen Martínez. *Clinical Transplantation.* 2021;00:e14255. <https://doi.org/10.1111/ctr.14255>.





**Anexo 6. Comunicaciones derivadas de este proyecto.**

1. **Enfermedad de injerto contra huésped resistente a varias líneas de tratamiento.** Paula Molés Poveda, Jaime Sanz Caballer, Miguel Ángel Navarro Mira, Blanca de Unamuno Bustos, Antonio Sahuquillo Torralba, Anaïd Calle Andrino, Jennifer Piqueras García, Rafael Botella Estrada. **44 Congreso Nacional de la Academia Española de Dermatología y Venereología.** Zaragoza, del 1 al 4 de junio de 2016.
2. **Refractory Acute Graft versus Host Disease Treated with Extracorporeal Photopheresis.** Paula Molés-Poveda, Jaime Sanz Caballer, Blanca de Unamuno Bustos, Antonio Sahuquillo Torralba, Anaïd Calle Andrino, Jennifer Piqueras García, Ignacio Torres Navarro, Begoña Escutia Muñoz, Rafael Botella Estrada. **72 Annual Meeting of the American Academy of Dermatology.** Orlado, del 3 al 7 de marzo de 2017.
3. **Algoritmo morfológico e inmunohistoquímico en el diagnóstico de la leucemia cutis y revisión clínica.** Mónica Bauza, Nohelia Rojas Ferrer, Astrid Herrera Rabadán, Empar Mayordomo Aranda, Paula Molés Poveda, Carlos Zac Romero, Raúl Rajadel Ramada, Rafael Botella Estrada y Francisco José Vera Sempere. **XXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica, la Sociedad Española de Citología y la Sociedad Española de Patología Forense.** Valencia, del 24 al 26 de mayo de 2017.
4. **Lymphoid populations and regulatory T cells after allogenic stem cell transplantation and correlation with chronic cutaneous graft versus host disease.** Paula Molés-Poveda, Lourdes Cordon, Amparo Sempere, Carlos Casterá, Felipe Casanova, Miguel Ángel Sanz, Rafael Botella-Estrada, Victoria Fornés, Jaime Sanz. **XV Congreso Sociedad Ibérica de Citometría.** Lisboa, del 25 al 27 de mayo de 2017.
5. **Leucemia cutis como primera manifestación de recurrencia post trasplante de progenitores hematopoyéticos.** Paula Molés Poveda, Jaime Sanz Caballer, Nohelia Rojas, Blanca de Unamuno Bustos, Antonio Sahuquillo, Anaïd Calle, Jennifer Piqueras, Rafael Botella Estrada. **45 Congreso Nacional de la Academia Española de Dermatología y Venereología.** Madrid, del 10 al 13 de junio de 2017.

6. **Estudio de la eficacia del imatinib en la enfermedad de injerto contra huésped crónica en una serie de 19 casos.** Molés-Poveda Paula, Piñana José Luis, Navarro Mirra Miguel Ángel, Pujol Conrad, Escutia Begoña, Botella-Estrada Rafael, Lorenzo José Ignacio, Montoro Juan, Sanz Caballer Jaime. **LIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia y XXXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.** Málaga del 26 al 28 de octubre de 2017.
7. **Caracterización morfológica de las biopsias cutáneas en la EICH: estudio del infiltrado inflamatorio y la expresión de elafina.** Paula Molés Poveda, Empar Mayordomo Aranda, Jaime Sanz Caballer, Blanca de Unamuno Bustos, Natalia Chaparro Aguilera, Begoña Escutia Muñoz, Rafael Botella Estrada. **43ª Reunión del Grupo Español de Dermatopatología y curso “La dermatopatología en la era de los biomarcadores”.** Barcelona, 10 y 11 de noviembre de 2017.
8. **Ruxolitinib In Refractory Acute and Chronic Graft-Versus-Host Disease: A Multi-Center Survey Study.** Virginia Escamilla Gómez, Valentín García Gutiérrez, Teresa Caballero-Velázquez, Nancy Rodríguez-Torres, Ildefonso Espigado, Lucía López Corral, Dolores Caballero, Irene García-Cadenas, Rodrigo Martino, Silvana Daniela Saavedra Gerosa, Ariadna Pérez Martínez, Pedro Antonio González Sierra, María De La Cruz Viguria Alegria, Teresa Zudaire, Ingrid Magnolia Parra Salinas, Marc Poch, Marta González Vincent, Miguel Ángel Díaz Pérez, Blanca Molina Angulo, Isabel Sanchez-Ortega, Rocío Parody Porras, Christelle M Ferra Coll, Guillermo Orti, David Valcarcel, Rafael De La Cámara, Paula Molés, Jaime Sanz, Juan Montoro Gómez, Kyra Velázquez-Kennedy, and José A. Pérez-Simón. **59th ASH Annual Meeting and Exposition.** Atlanta, del 9 al 12 de diciembre de 2017.
9. **Caracterización morfológica de las biopsias cutáneas en la EICH: estudio del infiltrado inflamatorio y la expresión de elafina.** Paula Molés Poveda, Empar Mayordomo Aranda, Jaime Sanz Caballer, Blanca de Unamuno Bustos, Antonio Sahuquillo Torralba, Anaid Calle Andrino, Jennifer García Piqueras, Ignacio Torres Navarro, Juncal Roca Ginés, Natalia Chaparro Aguilera, Begoña Escutia Muñoz, Rafael Botella Estrada. **46 Congreso Nacional de Dermatología y Venereología.** Palma de Mallorca, del 9 al 12 de mayo de 2018. *Accésit al mejor póster.*

- 10. Caracterización morfológica de las biopsias cutáneas en la EICH: estudio del infiltrado inflamatorio y la expresión de elafina.** Paula Molés Poveda, Empar Mayordomo Aranda, Juan Montoro, José Luis Piñana, José Ignacio Lorenzo, Carlos Carretero, Manuel Guerreiro, Blanca De Unamuno, Antonio Sahuquillo, Rafael Botella Estrada, Jaime Sanz Caballer. **LX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia y XXXIV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.** Granada del 11 al 13 de octubre de 2018.

